

LE PROBLÈME DU LAIT HYGIÉNIQUE

EN

MEURTHE-ET-MOSELLE

Souillures par Bactéries Coli-Aerogenes

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 8 Avril 1937

POUR OBTENIR LE GRADE DE

Docteur en Médecine

PAR

René-Henri-Roland GROSJEAN

Né à Saint-Remy (Haute-Saône), le 22 Mars 1910

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :

MM. PARISOT, professeur . .	Président
ROBERT, professeur . .	Juges
DROUET, agrégé. . . .	
MELNOTTE, agrégé . .	

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront posées sur les diverses parties de l'enseignement médical

IMPRIMERIE A. TOLLARD

2-4, Rue de Maréville, 2-4

NANCY-LAXOU

1937

LE PROBLÈME DU LAIT HYGIÉNIQUE

EN

MEURTHE-ET-MOSELLE

Souillures par Bactéries Coli-Aerogenes

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 8 Avril 1937

POUR OBTENIR LE GRADE DE

Docteur en Médecine

PAR

René-Henri-Roland GROSJEAN

Né à Saint-Remy (Haute-Saône), le 22 Mars 1910

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :

{	MM. PARISOT, professeur . .	Président	
	ROBERT, professeur . .	{	Juges
	DROUET, agrégé. . . .		
	MELNOTTE, agrégé . .		

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront posées sur les diverses parties de l'enseignement médical

IMPRIMERIE A. TOLLARD

2-4, Rue de Maréville, 2-4

NANCY-LAXOU

1937

FACULTÉ DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

Doyen : M. L. SPILLMANN, O $\star$, I $\circ$.

Professeurs honoraires : MM. NICOLAS, $\star$, I $\circ$; WEISS, O $\star$, I $\circ$;

BOUIN, O $\star$, I $\circ$; ANCEL, $\star$, I $\circ$; GARNIER, $\star$, I $\circ$;

MACÉ, $\star$, I $\circ$; P. PARISOT, O $\star$, I $\circ$; DUFOUR, $\star$, I $\circ$;

Professeurs :

Anatomie pathologique	M. L. HOCHÉ, O $\star$, I $\circ$.
Clinique des malad. syphilit. et cutanées	M. L. SPILLMANN, O $\star$, I $\circ$.
Cliniq. de chir. infantile et d'orthopédie	M. FRELICH, $\star$, I $\circ$.
Physiologie	M. M. LAMBERT, $\star$, I $\circ$.
Clinique obstétricale et Accouchements	M. A. FRUHINSCHOLZ, O $\star$, I $\circ$.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	M. P. JACQUES, $\star$, I $\circ$.
Clinique de chirurgie urinaire	M. P. ANDRÉ, $\star$, I $\circ$.
Histologie	M. R. COLLIN, $\star$, I $\circ$.
Anatomie descriptive	M. M. LUCIEN, $\star$, I $\circ$.
Clinique chirurgicale	M. G. MICHEL, $\star$, I $\circ$.
Clinique médicale	M. L. RICHON, $\star$, I $\circ$.
Chimie médicale	M. H. ROBERT, $\star$, I $\circ$.
Clinique médicale	M. M. PERRIN, $\star$, I $\circ$.
Hygiène et médecine préventive	M. J. PARISOT, C $\star$, I $\circ$.
Clinique chirurgicale	M. HAMANT, $\star$, I $\circ$.
Clinique ophtalmologique	M. P. JEANDELIZE, $\star$, I $\circ$.
Hydrologie	M. SANTENOISE, $\star$, $\circ$, $\star$, A $\circ$.
Clinique des maladies des enfants	M. L. CAUSSADE, $\star$, I $\circ$.
Bactériologie et parasitologie médicale	M. DE LAVERGNE, $\star$, I $\circ$.
Thérapeutique	M. SIMONIN, I $\circ$.
Professeurs sans chaire	{ M. L. JOB, $\star$, I $\circ$;
	{ M. WATRIN, $\star$, I $\circ$;
	{ M. BINET, $\star$, I $\circ$.

Chargés de cours complémentaires :

Clinique des maladies tuberculeuses ..	{ M. ABEL, $\star$, I $\circ$, agrégé.
Pathologie générale	{ M. P. SIMONIN I $\circ$, prof.
Clinique gynécologique	{ M. DROUET, I $\circ$, agrégé.
Pathologie externe	{ M. A. BINET, $\star$, I $\circ$, prof. sans chaire
Clinique des maladies contagieuses	{ M. GUILLEMIN, A $\circ$, agrégé.
Clinique des vieillards	{ M. DE LAVERGNE, $\star$, I $\circ$, professeur.
Propédeutique dermatologique	{ M. DROUET, I $\circ$, agrégé.
Médecine opératoire	{ M. WATRIN, $\star$, I $\circ$, prof. sans chaire.
Electrothérapie et radiologie	{ M. M. BARTHÉLEMY, $\star$, I $\circ$, agr. libre.
Accouchements (cours théorique)	{ M. G. LAMY, $\star$, I $\circ$, ch. du c, ag. lib.
Obstétrique	{ M. JOB, $\star$, I $\circ$, prof. sans chaire.
Clinique propédeutique médicale	{ M. VERMELIN, $\star$, I $\circ$, agrégé.
Anatomie et Médecine légale	{ M. KISSEL, agrégé.
Pathologie interne	{ M. MUTEL, $\star$, I $\circ$, agrégé.
Clinique des maladies mentales	{ M. ABEL, $\star$, I $\circ$, agrégé.
Éducation physique (1)	{ M. HAMEL, $\star$, docteur.
Physiologie du travail	{ M. L. MERKLEN, A $\circ$, agrégé.
Clinique neurologique (1)	{ M. L. MERKLEN, A $\circ$, agrégé.
Propédeutique O.-R.-L. (1)	{ M. MICHON, docteur.
Parasitologie	{ M. AUBRIOT, docteur.
	{ M. DOMBRAY, docteur.

Agrégés en exercice :

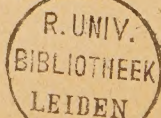
MM. MERKLEN, A $\circ$.	MM. POURSINES.	MM. GUILLEMIN, A $\circ$.
FLORENTIN, A $\circ$.	MELNOTTE, O $\star$.	ABEL, $\star$, A $\circ$.
BODART.	MUTEL, $\star$, I $\circ$.	DROUET, A $\circ$.
CHALNOT.	VERMELIN, $\star$, A $\circ$.	SIMONIN, A $\circ$.
WOLFF, A $\circ$.		

Agrégés libres :

MM. G. GROSS, $\star$, I $\circ$; S. RÉMY, I $\circ$; BUSQUET, I $\circ$.
 BARTHÉLEMY, $\star$, I $\circ$; LAMY, $\star$, I $\circ$;
 M. E. TRIBOLET, I $\circ$, Secrétaire.

(1) Fondation de l'Université.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.



A MON PÈRE ET A MA MÈRE,
témoignage de reconnaissance et d'affection.

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS,
DE MES ONCLES.

A TOUS LES MIENS.

A MES AMIS.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE,

Monsieur le Professeur JACQUES PARISOT,
Commandeur de la Légion d'Honneur,
Professeur d'Hygiène et de Médecine Sociale,
Membre correspondant de l'Académie de Médecine,
Délégué de la France au Comité d'Hygiène de la S.D.N.

A MES JUGES

Monsieur le Professeur H. ROBERT,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Professeur de Chimie Médicale et de Toxicologie.

Monsieur le Professeur Agrégé P.-L. DROUET,
Chargé du cours de Pathologie Expérimentale,
Médecin des Hôpitaux.

Monsieur le Professeur Agrégé P. MELNOTTE,
Officier de la Légion d'Honneur,
Professeur Agrégé d'Hygiène,
Médecin Lieutenant-Colonel des Hôpitaux Militaires.

A Monsieur le Docteur E. AUBRY,
Médecin-Chef des Asiles de Maréville.

AVANT-PROPOS

Au moment de terminer nos études médicales, nos sentiments de reconnaissance vont en premier lieu à M. le Professeur Jacques Parisot. C'est un honneur, dont nous sommes fier, de le voir présider cette soutenance de thèse, malgré les multiples occupations qui l'absorbent. Qu'il veuille bien accepter ce modeste travail en hommage d'admiration pour le Maître, dont les heureuses réalisations dans le domaine de l'Hygiène portent au loin le prestige de la Faculté de Médecine de Nancy. Nous y joignons nos remerciements pour l'obligeance avec laquelle il a mis les laboratoires de l'Institut d'Hygiène à notre disposition.

Nos vifs remerciements à M. le Professeur H. Robert et à M. le Professeur Agrégé P.-L. Drouet, dont les enseignements à la Faculté et au lit du malade nous ont toujours été précieux et qui ont bien voulu accepter de juger ce travail. Une profonde reconnaissance nous lie à M. le Professeur agrégé Drouet pour le dévouement dont il fit preuve à notre égard il y a quelques années.

Nos sentiments de respectueuse gratitude à M. le Professeur agrégé P. Melnotte, qui, après avoir été l'inspirateur de ce sujet de thèse, nous a toujours fait largement profiter de sa science et de son érudition, tant au cours des nombreuses conversations qui agré-

mentèrent l'élaboration de ce travail, que dans ses conférences du diplôme d'Hygiène, dont l'enseignement clair, vivant et concis restera un des meilleurs souvenirs de notre scolarité.

Nous associons à nos remerciements tous nos Maîtres de la Faculté et des Hôpitaux, et particulièrement ceux d'entre eux dont nous avons suivi de plus près l'enseignement au cours des stages que nous avons effectués dans leurs services respectifs pendant notre externat : MM. les Professeurs A. Hamant et A. Binet, MM. les Docteurs P. Michon et P. Gerbaut, Médecins des Hôpitaux.

Nous sommes très reconnaissant à M. le Docteur Fernier de nous avoir fait souvent profiter de sa science de bactériologiste et de nous avoir initié à des techniques qui nous étaient inconnues; à M. Lemoine, Professeur à l'Ecole des Beaux-Arts, de l'amabilité avec laquelle il mit son talent à notre disposition, à Mme Michenko et à Mlle Ulrich, de nous avoir aidé de leurs conseils et de leur expérience.

CHAPITRE PREMIER

Le Problème du Lait et l'Hygiène alimentaire en général

Les problèmes soulevés par le contrôle du lait. Importance de la question en Meurthe-et-Moselle : les deux sortes de laits; les critères du degré hygiénique d'un lait.

Buts proposés dans la thèse.

CHAPITRE I

Le Problème du Lait et l'Hygiène alimentaire en général

Au cours de nos études d'hygiène, et principalement lors de l'enseignement de MM. les Professeurs J. PARISOT et MELNOTTE, notre attention avait été plusieurs fois attirée par l'excellence des résultats obtenus par un contrôle scientifique strict de certains produits alimentaires, en particulier de l'eau, et des grandes perspectives qu'offrirait pour l'hygiène en général, un contrôle sanitaire plus efficace des produits d'alimentation au point de vue de la prophylaxie des maladies contagieuses et peut-être aussi de certaines diathèses dont l'étiologie reste encore plus ou moins obscure.

Les grands chapitres de la bactériologie, de la parasitologie et de l'épidémiologie abondent, en effet, en exemples de transmission de germes ou de parasites par l'intermédiaire des aliments qui représentent soit des vecteurs mécaniques, soit, en raison de leur constitution organique, d'excellents milieux de culture pour ces différents germes.

Les multiples manipulations que subissent les matières consommables du producteur à l'usager ont encore augmenté dans de très grandes proportions les

risques de pollution et mis, en définitive, le problème de la préservation contre les souillures extérieures des substances entrant dans la nourriture de l'homme au premier rang des préoccupations des médecins, des hygiénistes, et, par suite, des pouvoirs publics et du législateur.

Au cours des siècles précédents, l'hygiène alimentaire s'était bornée à cette phase de « génie sanitaire », pour employer l'heureuse expression de M. le Professeur LAIGNEL-LAVASTINE dans son cours sur l'Histoire de la Médecine Française, où l'Hygiène était dirigée par des ingénieurs et des architectes, comme en témoignent les aqueducs gigantesques et les premiers égouts datant de l'ère chrétienne ou les travaux d'adduction d'eau et d'urbanisme du Grand Siècle. Ces urbanistes étaient d'ailleurs guidés beaucoup plus par les soucis esthétiques que par des préoccupations d'hygiénistes : leur but était de fournir une eau claire et limpide, agréable aux regards, et d'échapper aux nuisances les plus grossières des eaux usées en les captant dès leur utilisation accomplie.

La bactériologie était inexistante; la parasitologie était à ses débuts, mais au XVIII^e siècle déjà, certains esprits curieux pressentaient et signaliaient au public le danger de la transmission des parasites par certains aliments. Mais c'est aux découvertes pastoriennes qu'est due l'impulsion décisive donnée à ces problèmes : la bactériologie montre alors d'une façon formelle le rôle des microbes dans la transmission et le développement des maladies contagieuses; par ailleurs, on cherche et on découvre les plus pathogènes : bacilles

d'Eberth et bacilles paratyphiques; plus tard ceux du groupe dysentérique dans l'eau, le lait et les matières alimentaires.

Si nous nous limitons pour un instant à la question de l'eau potable, dont l'analogie avec le problème du lait potable est manifeste, au seul caractère de propriété physique d'abord demandé à l'eau, se substitue, pour le médecin, l'hygiéniste et les pouvoirs publics, l'obligation d'une eau physiquement et chimiquement pure, puis rapidement est exigé le critère définitif : la nécessité d'avoir comme eau potable une eau bactériologiquement pure, ou tout au moins privée de ses germes les plus dangereux, par un des nombreux procédés de correction physiques ou chimiques dont dispose actuellement l'hygiéniste.

La démonstration de la justesse de ces principes théoriques a été éclatante : toutes les agglomérations où l'adduction d'eau a été établie selon les règles actuellement classiques en ce qui concerne les analyses préliminaires et la délimitation du périmètre de protection et où la quantité de l'eau fournie a été suivie par des analyses bactériologiques répétées, ont vu décroître et disparaître les épidémies de typhoïde, de paratyphoïde, de dysenteries bacillaires et s'atténuer considérablement la gravité des cas isolés qui sont devenus eux-mêmes une exception; une agglomération supérieure à 100.000 habitants comme Nancy enregistrait annuellement des cas de typhoïde par centaines avant 1900.

L'alimentation de la ville en eau potable, suivie d'un contrôle de plus en plus strict de la qualité bac-

tériologique de l'eau fournie à la population nancéienne est un des facteurs les plus importants qui ont permis de ramener la moyenne annuelle des cas déclarés à 66,16 pour la période 1908-1913 et à 35,5 pour la période 1928-1933. L'origine de la plupart des cas rencontrés étant d'ailleurs le plus souvent due à une contamination contractée durant un séjour hors de la ville. L'objectif de l'hygiène : augmenter le potentiel santé des collectivités urbaines et rurales a donc été atteint en grande partie en ce qui concerne le problème de l'eau potable; et il n'est pas douteux que l'abaissement de l'indice général de la mortalité en France de 17,5 p. 100 à 15,1 p. 100 de 1913 à 1929 trouve son explication partielle dans l'amélioration de la qualité bactériologique des eaux de consommation.

Le chapitre de l'eau potable en hygiène est donc parfaitement classique aujourd'hui et sa réalisation pratiquement très avancée; si sur 38.000 communes en France, 800 seulement ont une adduction d'eau potable, ce sont évidemment les agglomérations les plus importantes où les risques de contamination sont à leur maximum, qui en bénéficient.

En Meurthe-et-Moselle, 33 p. 100 des communes de plus de 1.000 habitants et seulement 55 p. 100 des communes comptant moins de 1.000 habitants ont l'eau potable. Comme l'indique la remarque précédente, l'effort d'assainissement par rapport à la population est infiniment plus important que ce pourcentage ne le laisse supposer, puisque 83 p. 100 des habitants bénéficient des adductions d'eau pour l'ensemble du département. Dans le seul arrondissement de

Nancy, où les réalisations sont particulièrement remarquables, « 189 communes sur 308 (soit 61 %) sont pourvues d'adduction d'eau et alimentent ainsi 298.640 habitants sur 334.711, soit 89 p. 100 d'entre eux » (Prof. J. PARISOT : La Fièvre typhoïde en Meurthe-et-Moselle, *Revue d'Hygiène*, 1934) ; sur ce point, comme sur bien d'autres, en hygiène, à l'exception peut-être du lait qui fera l'objet de ce travail, le département est donc à l'avant-garde du progrès. Le public est sympathique, en général, à toutes les mesures susceptibles de lui apporter une eau plus saine ; même s'il est le moins averti des choses de l'hygiène, il a pu constater les heureux résultats des divers procédés industriels ou domestiques de purification des eaux ; il a vu disparaître en particulier la hantise de l'endémie typhique qui sévissait dans certaines villes. Seule la question financière, malgré les avantages considérables concédés par l'Etat et accordés par la commission du Pari Mutuel du Ministère de l'Agriculture, retient encore certaines communes. Fait important, cependant, aucun intérêt particulier n'est, en général, heurté par les projets qui veulent doter une population d'une eau plus hygiénique.

Il n'en est malheureusement pas de même pour la surveillance d'autres produits courants de consommation, où trop d'intérêts particuliers, quelques-uns légitimes, font échouer les mesures que le législateur averti des choses de l'hygiène devrait imposer à la collectivité. Un effort sérieux a pourtant été entrepris depuis 1905 pour protéger la population contre divers risques de contamination alimentaire. La loi Ruau,

du 1^{er} août 1905, sur la répression des fraudes, prévoit la confiscation et la destruction des viandes avariées provenant d'animaux infectes ou intoxiqués, avec, comme sanction, l'article 477 du code pénal; la loi du 7 juillet 1933 a complété ces mesures en généralisant les lois de surveillance vétérinaire.

La fabrication des conserves, qui peuvent être le point de départ de cas mortels de salmonelloses ou de botulisme, est réglementée par la loi du 16 septembre 1935, prévoyant une inspection à l'origine de fabrication.

Les parcs à huîtres et à coquillages, dont les produits ont été à plusieurs reprises le point de départ de cas de typhoïde par souillure des eaux en provenance d'égouts qui se déversaient à proximité des lieux d'élevage, ont actuellement une exploitation soumise à de nombreuses lois et décrets : ceux du 31 juillet 1923 sur les certificats d'origine; du 12 août 1934 sur les pouvoirs des inspecteurs départementaux d'hygiène et des bureaux municipaux en matière d'inspection des parcs; du décret-loi du 30 octobre 1935 sur la protection des élevages contre les souillures d'égouts par la délimitation d'un périmètre de protection.

Plus récemment, les conditions de vente des denrées alimentaires ont été réglementées par une circulaire ministérielle du 23 juillet 1931, donnant aux préfets l'autorisation de prendre des arrêtés pour interdire la vente des aliments directement exposés à l'air libre et réglementer la propreté et l'hygiène des locaux de vente.

Si nombre de ces lois judicieuses ne sont peu ou pas appliquées, l'hygiéniste qui connaît leur existence peut, le cas échéant, se prévaloir de ces textes et en réclamer l'exécution.

Le Problème du Lait

Mais le lait reste encore un des produits qui ont jusqu'ici échappé en grande partie au contrôle scientifique ayant pour but d'assurer à la totalité de la population un produit correct et acceptable. Le problème du lait potable, malgré les nombreux travaux publiés à son sujet, reste encore à l'étude et, pour reprendre la comparaison avec l'eau au stade des seules qualités physico-chimiques, il n'a pas encore atteint la période du contrôle bactériologique qui peut seul assurer une garantie efficace à tous les consommateurs.

Son importance en France. — Les auteurs ont depuis longtemps attiré l'attention sur l'importance exceptionnelle du lait dans l'alimentation infantile, surtout dans les dix premiers mois de la vie, où il constitue l'aliment exclusif.

L'enquête de 1927-1928 du Comité d'Hygiène de la Société des Nations, à laquelle ont participé de nombreux pédiâtres, est arrivée à cette conclusion que le plus important des facteurs de mortalité infantile

est le péril congénital, principalement par transmission des tares syphilitiques et tuberculeuses; vient ensuite le péril infectieux et seulement en troisième lieu le péril alimentaire. Ce péril alimentaire, c'est-à-dire le mauvais lait, représente encore un des facteurs principaux expliquant le taux élevé de la mortalité infantile en France. Si les mesures de prophylaxie et d'hygiène appliquées à la première enfance ont déjà abaissé ce taux de 11,4 p. 100 à 7 p. 100 de 1923 à 1933 (alors que l'Allemagne, les Pays-Bas et la Suède ont un taux de mortalité infantile respectivement de 6,5 p. 100, de 5 p. 100 et de 4,5 p. 100), il n'en est pas moins vrai qu'une législation plus sévère en matière de lait entraînerait une diminution notable des cas de gastro-entérites estivales des nourrissons qui, se développant à l'époque où le lait est le plus riche en bactéries de toutes variétés, sont parfois si meurtrières. D'ailleurs les statistiques du Comité d'Hygiène de la S. D. N. ne représentent qu'une moyenne dans l'évaluation générale des périls qui menacent le premier âge. Dans certaines régions agricoles de France : pays de Caux, en particulier, où le lait consommé est presque toujours du lait cru, les professeurs DEBRÉ et JOANNON, ainsi que Mlle CRÉMIEU-ALCAN ont noté des taux de mortalité infantile variant de 9,27 à 10,29 pour 100 et estiment que le péril alimentaire entre dans ce taux général pour une part importante, variant de 2,06 à 2,20 p. 100.

Le lait est aussi un aliment courant de l'adulte, son degré de souillure bactérienne est donc loin d'être

indifférent. En thérapeutique, si la vieille formule appliquée aux défaillants cardiaques et surtout aux brightiques : « Le lait ou la mort », est tombée un peu en désuétude par suite de son taux élevé en albumine, le lait entre encore souvent dans les prescriptions de régime aux cardiaques, aux rénaux, aux intoxiqués, aux débilités et aux vieillards.

Pour toutes ces raisons, l'examen de ses qualités hygiéniques et les conclusions qui en découlent au point de vue de la santé publique sont donc d'une haute importance.

Importance et valeur hygiénique des laits en Meurthe-et-Moselle. — En Meurthe-et-Moselle, le problème du lait hygiénique se présente de la façon suivante :

La production annuelle de lait dans le département est d'environ un million d'hectolitres, dont la moitié est consommée par les 592.632 habitants du département; mais ce qui fait l'intérêt de l'étude de la valeur hygiénique de ce lait c'est que le département est un pays de petits propriétaires ruraux dont la production dépasse rarement une cinquantaine de litres; ce lait est consommé brut par les populations rurales; les citadins l'utilisent sous deux formes :

a) Les laits traités par les procédés de pasteurisation ou de stassanisation dans quatre usines de Nancy, après avoir été collectés dans l'opération dite de

« grand ramassage » et qui représentent 48 p. 100 de la consommation totale. Ces laits ne nous retiendront pas longtemps; les différentes épreuves qu'ils subissent semblent leur assurer une correction bactériologique à peu près parfaite par destruction de la flore banale. S'ils sont ensuite réfrigérés convenablement et mis en récipients propres, eux-mêmes conservés au froid, ils constituent des laits très acceptables du point de vue hygiénique. Pratiquement des analyses ultérieures y décèlent encore de nombreux germes; la proportion acceptable de ces laits n'est que de 64 à 71 p. 100 en hiver et de 25 à 81 p. 100 en été.

b) Les laits bruts, représentant 52 p. 100 de la consommation totale. Ils proviennent de petits producteurs et des opérations dites de « petit ramassage » et nous intéressent au plus haut chef puisque utilisés pour les usages domestiques sans avoir subi aucune analyse, aucune correction, sinon la simple ébullition, dont M. le Professeur ROBERT démontre depuis de longues années, à ses cours d'hygiène, l'inefficacité presque totale, puisque les ménagères retirent en général le lait quand il « monte », phase à laquelle il n'est pas encore stérilisé.

Quelle est donc la valeur générale de ces laits que consomment journellement la moitié environ de la population nancéienne et la presque totalité de la population rurale ? Elle a été plusieurs fois étudiée par les travaux de MM. J. PARISOT, MELNOTTE et FER-

NIER, par Pierre GOEPFERT et R. MARCHE, et nous ne donnerons ici que leurs conclusions :

1° La valeur commerciale des laits du département, c'est-à-dire la proportion respective des protides, des glucides et des lipides est légèrement en dessous de la normale de la France par suite de l'augmentation croissante dans le cheptel lorrain de la race hollandaise qui fournit un lait peu riche en matières grasses.

2° Leur qualité hygiénique s'est révélée très inférieure à la suite des analyses suivantes qui ont porté entre 1933 et 1935 sur 800 échantillons de lait ayant subi les divers examens suivants :

Examen physique. — La coloration rouge, bleue ou jaune des laits sous grande épaisseur indique une fermentation par des bactéries colorantes du type amylobacter ou micrococcus mucilaginosus. Ces laits sont rejetés par le service de répression des fraudes et en général ne sont jamais livrés à la consommation. La filtration d'un litre de lait sur rondelle d'ouate assez mince par la teinte plus ou moins foncée de l'ouate donne également une indication grossière sur la propreté d'un lait. Les densités observées ont varié de 1.029,7 à 1.038,5 l'hiver; de 1.025,9 à 1.034,9 l'été; la densité moyenne étant de 1.030. Enfin, ces laits contiennent souvent des débris divers : végétaux ou animaux.

Examen chimique. — La mesure de l'acidité en degrés DORNIC donne des résultats variant de 14° à

29° l'hiver, de 12° à 64° l'été (la normale variant aux environs de 17°). Quant à la teneur en matières grasses, elle oscille de 21 p. 100 à 57 p. 100 l'hiver, de 24 gr. p. 100 à 51 gr. p. 100 l'été; la norme étant de 40 gr. environ.

L'examen biologique, par épreuve de la réductase, suivant la technique d'Orla JENSEN, qui consiste à noter la vitesse de décoloration en heures à 37° d'un mélange de 40 cmc de lait additionné d'une solution hydro-alcoolique de bleu de méthylène. Ces réductases, qui proviennent de deux origines — des cellules mammaires et surtout des microbes, en particulier des ferments lactiques, — sont mises en évidence par la décoloration d'indicateurs comme le bleu de méthylène; le lait est d'autant plus mauvais que la décoloration est plus rapidement obtenue. Cette méthode a donné une proportion normale de 65 p. 100 de laits en hiver et seulement de 29,4 p. 100 en été.

L'examen cytologique a recherché les polynucléaires en provenance directe de la glande mammaire de la vache dans le culot de centrifugation provenant de 40 cmc de lait et les a décelés nombreux dans 15 p. 100 des cas.

L'examen bactériologique enfin, comprenant d'une part numération des germes par cmc et la recherche des bacilles pathogènes : bacilles de Koch, streptocoques, entérocoques, bacilles paratyphiques, colibacilles, tous ou presque d'origine extérieure à l'animal. En

effet, dans les travaux poursuivis pendant ces années à l'Institut d'Hygiène, les analyses ont porté sur des laits d'échantillons prélevés directement au pis de la vache qui se sont montrés d'une excellente qualité bactériologique; contrairement à la croyance du grand public, la traite manuelle donne de bien meilleurs résultats à ce point de vue que la traite mécanique, par suite de la difficulté pratique d'un nettoyage parfait des appareils de traite quiensemencent ensuite le lait. Les échantillons prélevés sur des laits de ramassage se sont montrés extrêmement souillés, contenant l'hiver pour la moitié d'entre eux de 0 à 200.000 germes par cmc et pour l'autre moitié de 200.000 à plus d'un million; au cours de l'été les teneurs passent au delà du million jusqu'à 100 millions par cmc, pour un peu plus de la moitié des analyses, et au delà de 100 millions pour le reste. Les tableaux suivants, empruntés à l'ouvrage de MM. PARISOT, MELNOTTE et FERNIER sur l'Hygiène du Lait dans le département de Meurthe-et-Moselle, tableaux indiquant en outre la recherche du colibacille et la colimétrie, résument ces résultats :

(Voir page suivante)

Toutes ces diverses méthodes employées en France et par les auteurs étrangers concourent donc à mettre en évidence l'extrême pullulation des germes dans les laits crus; or, en France, aucun texte de loi n'oblige à les améliorer avant de les livrer à la consommation. Toutes ont leurs avantages et leurs inconvénients, qu'il ne nous appartient pas d'apprécier ici, mais il semble

A) HIVER. — Laits de Consommation directe : 39.

<i>Nombre de germes par cmc :</i>		
0 à 200.000	200.000 à 1.000.000	1 à 100.000.000
17 (43 %)	15	7
<i>Nombre de colibacilles par litre :</i>		
0 à 10.000	10 à 100.000	100.000 à 1.000.000
17 (43 %)	22	0
		Plus de 1 million
		0

B) ÉTÉ. — Laits de Consommation directe : 56.

<i>Nombre de germes par cmc :</i>		
0 à 200.000	200.000 à 1.000.000	1 à 100 millions
1 (1,7 %)	1	31
		23
<i>Nombre de colibacilles par litre :</i>		
0 à 10.000	10.000 à 100.000	100.000 à 1 million
8 (14,2 %)	7	11
		30
		Plus de 100 millions

bien que selon l'opinion de M. le Professeur J. PARISOT, étant donné les inégalités frappantes obtenues en comparant les résultats de ces diverses méthodes, c'est en soumettant un lait à un certain nombre de ces techniques précédentes, reconnues par l'expérience comme offrant le plus de garanties, que réside le critérium de son acceptabilité.

Peuvent être considérés comme acceptables les laits ayant les caractères suivants : réductase, plus de 6 h.; analyse bactériologique : moins de 200.000 colonies au cmc et moins de 10.000 colibacilles au litre. Etant donné la diversité des souches de colibacilles, l'importance en particulier de la distinction du colibacille fécal et du bacille aerogenes, simple saprophyte, il nous a paru intéressant de rechercher sur une centaine d'échantillons de laits crus prélevés dans le département de Meurthe-et-Moselle :

1° Le pourcentage de ces deux variétés.

2° De comparer les anciennes méthodes de détermination des bactéries coli-aerogenes dans le lait avec une méthode plus récente, celle de M. ZAPATERO.

3° D'en déduire enfin des conclusions pratiques au point de vue du contrôle hygiénique des laits.

CHAPITRE II

Les Colibacilles - Leur Signification dans le Lait

Caractères du colibacille d'ESCHERICH; propriétés bio-chimiques. Distinction des races de colibacilles d'après Irène LIPSKA, CONKEY, BESSON. Coli fécal et aerogenes. Propriétés pathogènes pour l'homme et les animaux.

Présence dans le lait; son interprétation; importance pratique.

CHAPITRE II

Les Colibacilles. — Leur Signification dans le Lait

LES COLIBACILLES.

Morphologie. — Le *Bacterium coli* ou colibacille décrit par ESCHERICH en 1885, est un bacille de 2 à 4 μ de longueur, sur 0,6 à 0,7 μ de largeur. Avant ESCHERICH, PASSET l'avait déjà reconnu comme l'agent de certains phlegmons gazeux et décrit sous le nom de *Bacillus pyogenes foetidus*; la bactérie urinaire de CLADO, agent d'un certain nombre d'affections urinaires, n'était autre également que le colibacille d'ESCHERICH. Le mérite de cet auteur est d'avoir montré l'unicité de ces différents germes et d'en avoir précisé les principaux caractères bactériologiques : « bacille aérobie » facultatif, plus ou moins mobile, dépourvu de capsules, à extrémités arrondies, ne possédant pas de spores, ne prenant pas le Gram, ne liquéfiant pas la gélatine, attaquant le lactose avec production de gaz, produisant des gaz aux dépens de tous les sucres qu'il attaque, réduisant le rouge neutre et produisant fréquemment de l'indol « (d'après BESSON, *Technique microbiologique*).

La morphologie de ce bacille est sujette à quelques modifications : il peut donner des formes plus longues, très rarement filamenteuses; on observe enfin quelquefois des variétés possédant un espace clair central. La disposition des bacilles est indifférente, mais d'après BESSON, ils peuvent être répartis en diplobacilles en courtes chaînettes, disposition que nous n'avons jamais eu l'occasion d'observer sur une trentaine de souches.

Sa mobilité est très variable; en moyenne moins marquée que celle du bacille d'EBERTH. A partir des souches en provenance des laits 49 et 51 ensemencées sur eau peptonée et mises à l'étuve à 38° pendant dix heures, nous n'avons observé qu'une mobilité nulle pour les bacilles de la souche 51 et très peu marquée pour ceux de la souche 49. La mobilité du colibacille est d'ailleurs un caractère négligeable pour tous les auteurs consultés. Pour CARNOT et GARNIER, ce serait un caractère secondaire, susceptible d'être modifié par sélection. Pour BESSON, il ne saurait servir en aucun cas à une base de classification des colibacilles.

Certains procédés de coloration, dont la méthode de NICOLLE au tanin, plus difficile à réussir que pour la coloration des cils du bacille d'EBERTH, montrent quatre à six flagelles par bacille pouvant s'implanter sur toute sa surface, mais disposés le plus souvent à une extrémité. Leur longueur est de 3 à 5 μ au maximum; ils sont fort peu flexueux.

Milieux de cultures. — Nous passerons rapidement en revue les différents milieux de cultures tout à fait

classiques du colibacille qui figurent dans tous les traités de bactériologie.

Le colibacille se développe sur tous les milieux usuels, sa culture commence à plus 4° et se poursuit jusqu'à 46° avec température optima de 38°. Germe facilement cultivable, ses cultures dégagent une odeur légèrement fécaloïde. Il pousse sur bouillon, sur gélose et sérum solidifié, sur pomme de terre et sur milieu de REMY et SUGG; il coagule le lait en 24 heures environ, à 37°. Il ne se développe pas sur les milieux caféinés ou au vert malachite, mais prospère, par contre, sur milieu arsénical à raison de 1 à 2 grammes d'acide arsénieux par litre ou sur les milieux phéniqués, où CHANTEMESSE et WIDAL ont montré qu'il tolérât des taux de 1 pour 400 d'acide phénique.

Propriétés biochimiques. — Parmi ses propriétés biochimiques, la plus importante est l'attaque de la plupart des sucres avec dégagement de gaz. Il fait fermenter sur gélose tournesolée inclinée et en eau peptonée le glucose, le lévulose, le maltose, le lactose, le galactose, la mannite et la glycérine.

L'intérêt de cette fermentation de certains sucres est qu'elle a permis d'isoler plusieurs races différentes de colibacilles que ne pouvaient différencier d'une façon satisfaisante l'étude des propriétés agglutinantes des sérums, les agglutinations étant souvent strictement homologues et le sérum qui agglutine une souche déterminée étant, en général, indifférent vis-à-vis des souches d'autre provenance et présentant une identité complète de tous les autres caractères; c'est ainsi que

cinq variétés de colibacilles ont été isolées et leurs caractères définis et admis par la plupart des auteurs selon leur pouvoir de fermentation en présence de la glycérine, de la sorbite, de la dulcité, du saccharose, du raffinose et de la salicine. Ces cinq races de colibacilles fermentent les sucres selon les indications fournies dans le tableau ci-dessous :

SUCRES FERMENTÉS	RACES	SUCRES NON FERMENTÉS
Saccharose, dulcité, sorbite, raffinose, salicine.	Neapolitanum	0
Saccharose, dulcité, sorbite, raffinose.	Coli communior	Salicine
Dulcité, sorbite, salicine.	Coli commune	Saccharose, raffinose
Saccharose, sorbite, raffinose, salicine.	Lactis aerogenes	Dulcité
Sorbité.	Acidi lactici	Raffinose, salicine Saccharose, dulcité

Si nous examinons en pratique comment se répartissent ces diverses espèces de colibacilles dans des analyses de nombreux échantillons, nous voyons que M^{me} Irène LIPSKA (*Le Lait*, juillet-août 1934), dans une étude portant sur 186 souches de colibacilles isolés du lait détermine 130 souches typiques, soit 69,9 p. 100 de souches isolées, ressortissant :

- 26 à la variété Neapolitanum,
- 14 aux bactéries coli communior,
- 25 aux bactéries coli commune,
- 39 aux bactéries lactis aerogenes,
- 26 aux bactéries acidi lactici,

d'après les caractères de fermentation des sucres précités; ces fermentations sont d'ailleurs éminemment variables pour un même germe et un même sucre; cet auteur ayant montré que l'intensité de la fermentation pouvait être augmentée par des passages quotidiens dans le même milieu, mais aussi s'affaiblir par une culture prolongée dans un milieu s'appauvrissant en substances hydrocarbonées.

Les 56 souches restantes, soit 30,01 p. 100, se répartissaient en quatre variétés dont l'une (9 souches) représente une forme de bactérie « lactis aerogenes » à caractère fermentatif atténué dans les milieux sucrés, dont la deuxième (4 souches) est une forme bâtarde de « coli-communior » et dont les deux dernières (20 et 23 souches) sont respectivement des variétés intermédiaires aux espèces « commune, communior » et « commune-aerogenes ».

Cette statistique permet donc de constater qu'un pourcentage important de 30,01 de souches de colibacilles n'a pas de caractère bactériologique spécifiquement défini vis-à-vis de la fermentation des sucres. 17,68 de ces souches peuvent néanmoins être rattachées à une des variétés classiques de colibacille :

4,82 % au groupe « aerogenes »,
2,14 % au groupe « communior »,
10,72 % à un groupe intermédiaire aux races « commune »
et « communior ».

Par contre, la statistique de M^{me} LIPSKA montre que les 23 souches restantes représentent un pourcentage de 12,33 p. 100 demeurent indéterminées et ne peu-

vent prendre place dans aucune des catégories précédemment décrites.

La classification de Mac CONKEY, qui distingue parmi les colibacilles les espèces suivantes, dont le pouvoir fermentatif est indiqué dans le tableau ci-dessous :

	SACCHAROSE	DULCITE
Bacillus communior	+	+
Bacillus communis	—	+
Bacillus aerogenes	+	—
Bacillus acidi lactici	—	—

confirme en ce qui concerne le pouvoir fermentatif des sucres les observations de Mme LIPSKA.

D'autres auteurs, comme BESSON, admettent trois races de colibacilles, la première ne fermentant ni le saccharose ni la dulcité sur gélose inclinée,

la seconde fermentant le saccharose mais non la dulcité,

la troisième fermentant le saccharose et la dulcité;

dans ces races enfin existent des variétés produisant ou non de l'indol et noircissant ou non le plomb.

En résumé, la variété des races différentes de colibacilles mise en évidence par la fermentation de ces sucres est grande et très incommode dans la pratique bactériologique journalière, aussi a-t-on communément l'habitude de réunir sous un même vocable : « coli fécal », les variétés : neapolitanum, communior et commune, parce qu'elles se trouvent initialement constituer des germes propres à l'intestin de l'homme et des animaux et possèdent un certain nombre de réactions biologiques communes, qui seront examinées ultérieu-

rement, suffisantes pour faire admettre en pratique leur analogie, tandis que les variétés « acidi lactici » et « aerogenes » constituent une autre race ayant des réactions opposées permettant de faire la différenciation avec la variété fécale. Cette distinction n'a qu'une valeur relative puisque sur les 186 souches isolées à partir de laits par M^{me} LIPSKA, vingt-trois représentent des variétés intermédiaires aux coli « lactis aerogenes » et « commune ». D'après cette statistique, dans 12,33 pour 100 des cas, il ne serait donc pas Possible de distinguer le colibacille fécal de l'aerogenes.

Du point de vue biologique, ce fait montre que l'espèce colibacille que l'on considère un peu arbitrairement en pratique comme se répartissant en deux variétés : coli fécal et b. lactis aerogenes, n'est pas fixée, phénomène courant en bactériologie, où de nombreux germes soumis comme les colibacilles aux lois de l'évolution, montrent à l'examen attentif de leurs caractères biologiques des propriétés sans cesse renouvelées selon le milieu auquel ils s'adaptent. Le b. lactis aerogenes, à cet égard, possédant la plupart des réactions du groupe colibacille, doit être considéré comme une variété initiale s'étant fixée Par adaptation hors du tube digestif des vertébrés, a une existence exclusivement saprophyte, tandis que la variété fécale, avec ses multiples représentants : Neapolitanum, communis, communior, acidi lactici, montre des races irrégulièrement adaptées au pouvoir de fermentation des sucres, malgré lesur caractères identiques dans toutes les autres réactions qui signent le coli fécal.

Certains auteurs allemands, tels MM. BECK, INO, KLIENENBERGER et LOTZE, dépassant les conclusions de la majorité des bactériologistes sur les mutations des colibacilles, d'après leurs propriétés biochimiques, admettent même, dans des mémoires récents, l'identité morphologique, sinon pathogène de certaines variétés de colibacilles avec le groupe des bacilles paratyphique B, dont les caractères différentiels sont pourtant si tranchés.

Il existe enfin à côté du groupe des colibacilles un certain nombre d'espèces plus proches des colibacilles que d'autres germes : ce sont le bacille de la diarrhée verte de LESAGE, le bacille de la septicémie des furets d'EBERTH, celui de la septicémie des porcs de JOBERT et RIETSCH, de la septicémie spontanée du lapin, d'EBERTH et MANDRY, le bacillus amaracrylus de VOISENET, décrit dans une maladie des vins, et certaines souches de pneumobacilles très proches des colibacilles.

En dehors de leur action sur les sucres, les colibacilles fermentent de nombreux milieux, sucrés pour la plupart, qui donnent lieu également à des Procédés d'identification peu utilisés en pratique, rappelés ici pour mémoire : cultures en eau peptonée sucrée tournesolée inclinée, en culot de gélose tournesolée sucrée, en milieux à la nutrose, en lait tournesolé et en petit lait tournesolé, en milieux spéciaux, dont le principe est l'addition aux milieux lactosés de couleurs, dont la teinte est modifiée ou avivée par les acides, tels les procédés de RAMOND à la fuchsine acide, de DENNEMARK au reinblau, de ROBIN à la potasse.

L'action des colibacilles sur les composés organiques azotés se résume dans la production d'indol dans les solutions de peptone. Si ce bacille coagule le lait (sans redissoudre ensuite le caillot), il ne liquéfie ni la gélatine, ni le sérum coagulé, ni le cube de blanc d'œuf. Il produit également de l'hydrogène sulfuré, mais noircit d'une façon fort inégale la gélose au plomb.

PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES DES COLIBACILLES.

La variété « aerogenes » n'existe que rarement dans le tube digestif des vertébrés; les autres variétés de colibacilles constituent au contraire un des principaux éléments de la flore intestinale de l'homme et des animaux. Chez un individu sain, ils peuvent être pratiquement considérés comme des saprophytes; en effet, des souches de colibacilles en provenance de selles d'adultes sains inoculées à des animaux se montrent en général inoffensives, déterminant au plus un abcès sous-cutané, mais quelques passages sur l'animal, en particulier des inoculations sous-cutanées, intra-pleurales ou intra-péritonéales par ordre de gravité croissante chez le cobaye, animal d'expérience plus sensible au colibacille que la souris et le lapin, exaltent rapidement sa virulence et provoquent la mort de l'animal en 24 heures environ avec des symptômes de péritonite suraiguë et de l'hypothermie. A l'autopsie, le cobaye présente des anses intestinales couvertes de membranes fibrino-purulentes et des lésions parenchymateuses, telles qu'ecchymoses sous-muqueuses intestinales, ulcérations des plaques de PEYER, splénomé-

galie avec présence du bacille dans le sang et les viscères.

Un phénomène analogue dans ses causes, sinon dans ses effets, semble se produire chez l'homme, où la virulence latente du colibacille augmente brusquement dans de nombreux états fébriles ayant pour point de départ des maladies intestinales ou intéressant le tractus intestinal, telles que typhoïdes, entérites graves, diarrhées cholériformes.

En dehors de l'infection, la simple obstruction réalisée par une hernie étranglée augmente aussi sa virulence et peut également donner lieu à des complications redoutables : péritonites par perforation de l'anse infarciée. Par suite de sa pullulation, on a pu l'isoler dans les affections les plus variées et les organes les plus divers; il a été trouvé dans des endocardites malignes, certaines méningites, des abcès du foie, mais toujours à titre de complication secondaire; sa présence dans le sang, mise en évidence par l'hémoculture, comporte un pronostic de haute gravité et des signes cliniques rappelant la fièvre typhoïde (GILBERT et LION). Tous ces accidents secondaires, dus au colibacille, sont d'ailleurs extrêmement sérieux.

Malgré cette polyvalence pathogène, le bacille du colon, en dehors de son affinité pour l'intestin, possède un tropisme également marqué pour l'appareil urinaire, où les traités de pathologie ont signalé depuis longtemps sa présence dans les pyélites, pyélonéphrites et cystites; dans la pyélonéphrite gravidique en particulier, la débilité du parenchyme rénal s'associant aux troubles mécaniques provoqués par la

grossesse, augmente sa virulence, tandis que des travaux plus récents ont mis en évidence sa responsabilité dans les cycles entéro-rénal et entéro-génital.

Peu d'heures après la mort enfin, le colibacille envahit d'une façon constante le sang et les organes.

En dehors de l'intestin normal, on trouve le colibacille d'ESCHERICH dans le sol, les poussières et les eaux souillées de déjections humaines.

SIGNIFICATION DE LA PRÉSENCE DU COLIBACILLE DANS LE LAIT.

L'ubiquité des colibacilles et l'extrême variabilité de leur pouvoir pathogène expliquent les difficultés éprouvées à préciser d'une façon formelle le danger qu'ils représentent lorsqu'ils souillent les matières alimentaires; ces difficultés sont accrues par le fait, bien établi actuellement, que certaines variétés de colibacilles, à caractères fécaux, ne peuvent se développer sur certains milieux alimentaires ou inversement, soit parce qu'il se réalise sur ces milieux un phénomène inverse de la vaccination décrite par CHANTEMESSE et WIDAL (un microbe n'ayant aucune affinité pour le colibacille l'empêcherait ensuite de se développer, probablement par épuisement du milieu), soit plutôt parce que certaines variétés de colibacilles ne seraient pas adaptées à ces milieux alimentaires. La variété de colibacille « acidi-lactici » réalise souvent ce phénomène.

Devant la difficulté de déterminer le potentiel pathogène possible d'un colibacille, les auteurs ont dû

admettre que la présence de ce germe dans un produit alimentaire était un test de souillure, éminemment bénigne, et n'ayant pas une signification beaucoup plus grande que celle de cocci ou de staphylocoques les plus banaux, en ce qui concerne la variété aérogènes. Cette race de colibacille est, en effet, toujours saprophyte à l'époque actuelle; peu entraînée à vivre et à se développer dans le tube digestif de l'homme ou des animaux, elle n'y acquiert pas de pouvoir pathogène; cette souillure prend au contraire une importance infiniment plus grande en ce qui concerne les variétés de coli fécales, puisque leur présence dans un Produit alimentaire indique une pollution directe ou indirecte par des matières fécales.

Ce test est depuis longtemps employé en matière d'examen bactériologique des eaux : toute eau contenant plus de 50 colibacilles au litre est considérée dans tous les laboratoires d'analyses comme suspecte et impropre à la consommation au-dessus de 100, d'après les estimations de H. VINCENT; mais l'eau est un mauvais milieu de culture et le colibacille ne s'y multiplie guère; il y conserve le taux de la souillure initiale; le lait, au contraire, excellent milieu de culture, accuse des taux infiniment plus élevés.

Quelles seront donc les conséquences hygiéniques de la présence du coli fécal dans le lait ?

1° Le colibacille fécal n'étant, dans l'immense majorité des cas, pas pathogène, il n'infectera presque jamais l'organisme, mais comme son taux élevé coïn-

cide presque toujours avec un Pourcentage beaucoup plus élevé encore d'autres germes intestinaux, il en résultera, surtout pour l'organisme délicat de l'enfant, qu'un lait souillé de colibacilles sera vecteur d'une quantité anormalement élevée (plusieurs millions de germes au centimètre cube pour une teneur en colibacilles égale à un million par litre de lait) d'autres germes dont certains peuvent évidemment ne pas être inoffensifs. Un auteur anglais, M. SCOTT, indique dans une intéressante étude publiée dans le « Journal of Dairy Research » que les affections ainsi transmises par l'intermédiaire du lait lui paraissent devoir être classées, en Angleterre, par ordre d'importance croissante de la façon suivante : infections dues à des streptocoques et parmi elles la scarlatine; infections dues au Brucella, dont le type est fourni par la fièvre ondulante, la tuberculose « dans toutes ses manifestations » et la presque totalité des affections entériques.

2° La qualité du lait chargé en colibacilles sera surtout très compromise : M. BARKWORTH qui s'est spécialement occupé de cette question, arrive aux conclusions suivantes :

« a) La présence de bactéries du genre coli abrège la tenue de qualité du lait.

b) L'influence néfaste est proportionnelle au degré de contamination.

c) La contamination provoquant la première arrivée dans le lait de ces germes indésirables est plus

grave qu'une contamination ultérieure déterminant une surcharge dans la présence des organismes.

d) Il est d'une absolue nécessité d'exiger du lait sa pauvreté en germes coliformes si l'on désire une longue conservation de sa qualité. »

CHAPITRE III

Les Techniques bactériologiques pratiquées pour l'Identification du Groupe Coli-Aerogenes

Techniques suivies pour la détermination du colibacille.

Identification du groupe coli aerogenes. Milieux de CLARK et LUB. Réaction du rouge méthyle, de VOSGES-PROSKAUER et de KOSER.

Autres méthodes de diagnostic et d'identification des colibacilles.

CHAPITRE III

Les Techniques bactériologiques pratiquées pour la Recherche et l'Identification du Groupe Coli-Aerogenes

1° TECHNIQUES EMPLOYÉES POUR LA RECHERCHE DU COLIBACILLE.

Réservant pour les chapitres suivants l'exposé et la critique des résultats obtenus, nous examinerons successivement dans ce chapitre les techniques que nous avons utilisées Pour la recherche du colibacille dans le lait, les procédés employés pour la détermination des espèces coli et aerogenes, enfin le rappel des autres techniques.

La majorité de nos recherches a porté sur des laits crus, définis au premier chapitre et portant sur 100 échantillons; une vingtaine seulement sur des laits ayant subi une correction industrielle par les procédés de pasteurisation ou de stassanisation et livrés dans le commerce en flacons d'un litre portant la marque de l'usine et le procédé industriel employé dans la correction.

Dans les deux cas, nous nous sommes donc placés dans les conditions où se trouve la population lorsque le lait lui est livré.

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide de bouteilles stériles enrobées de papier stérilisé et placées à l'intérieur de boîtes métalliques qui servent ordinairement à la prise d'échantillons pour l'analyse des eaux. Dans la majorité des cas, le maximum de précautions aseptiques (flambage du goulot des bouteilles) a été pris pour éviter l'apport de germes extérieurs au lait avant les analyses.

Les prélèvements ayant été effectués, d'octobre à mars, il y a lieu de penser que la multiplication des germes entre le local de vente où le ramasseur et le laboratoire a été relativement faible vu la saison. Dès leur arrivée au laboratoire, en attendant leur ensemencement, les bouteilles ont été déposées à la glacière. Dans tous les cas, il ne s'est jamais écoulé plus de vingt-quatre heures entre le moment où les échantillons de lait ont été prélevés et leur premier ensemencement.

1° Cet ensemencement a eu lieu pour chaque lait dans les conditions suivantes :

Nous avons utilisé l'eau peptonée salée ordinaire, préparée à la concentration de 20 grammes de peptone CHAPOTEAUX et de 5 grammes de NaCl pour 1.000; le milieu neutralisé est stérilisé ensuite à l'autoclave à 110°, puis réparti à raison de 10 cmc dans des tubes stériles dits « à milieu », dans lesquels l'ensemencement est effectué. Nous avons tenu le plus grand compte des conclusions auxquelles était arrivé M. PIEN dans ses études sur la recherche du *Bacterium coli* dans le lait pour les quantités à ensemer. Dans son

travail, cet auteur a étudié successivement l'influence de l'acide lactique libre et des corps microbiens des ferments lactiques vivants existant dans le lait et produisant de l'acide lactique sur le développement du colibacille et est arrivé aux propositions suivantes :

1° « Des milieux complets comme le lait, acidifiés
« par l'acide lactique, et dont la réaction n'est pas
« amenée à changer notablement pendant plusieurs
« heures, le *Bacterium coli* commence à disparaître
« en présence de doses égales ou supérieures à 5 gr.
« d'acide lactique libre par litre, correspondant à 70°
« DORNIC sur le lait. Son développement est déjà
« rendu impossible par une dose de 4 grammes d'acide
« lactique libre par litre. Au-dessous de cette dose,
« la prolifération du coli est simplement ralentie et
« d'autant moins que l'acidité est plus faible.

2° « Les ferments lactiques seuls ne produisant pas
« d'acidité libre (par un artifice de culture), consti-
« tuent une gêne certaine à la prolifération du *Bac-*
« *terium coli*, au moins dans les conditions où nous
« avons opéré, c'est-à-dire avec une disproportion
« énorme entre la quantité des lactiques et du *Bac-*
« *terium coli* (10 à 30 germes par litre). »

Pratiquement ces faits montrent que lorsqu'on introduit du lait dans une eau peptonée, à raison de 1 cmc de lait pour 10 d'eau peptonée, la quantité de lactose incorporée au milieu peut, par fermentation de ce sucre produite par les ferments lactiques du lait, déterminer la formation d'une quantité d'acide lactique empêchante pour le développement du coliba-

cille, surtout si celui-ci existe en Petite quantité; leur conclusion est qu'il importe en pratique de ne jamais ensementer directement 1 cmc de lait dans 10 cmc d'eau peptonée, par exemple, mais de pratiquer des dilutions de plus en plus fortes du lait à analyser.

Ces principes nous ont été confirmés par l'expérience : plusieurs laits chargés de colibacilles, introduits en eau peptonée à raison de 1 cc p. 10 ont donné une réaction d'indol négative, alors que les dilutions au dixième et au centième donnaient une réaction positive. Bien que la quantité d'indol produite dans ceux-ci soit beaucoup plus diluée que l'indol produit dans celui-là, elle était donc en réalité bien supérieure en quantité absolue.

Nous avons donc procédé ainsi pour chaque lait : dans trois tubes à hémolyse, il a été versé à la pipette aseptiquement 4,5 cmc d'eau physiologique; dans le premier tube est ajouté à la pipette graduée 0,5 cmc du lait à analyser; après aspiration et refoulement, de façon à provoquer un mélange homogène de ce tube, 0,5 cmc sont prélevés et ajoutés au tube n° 2, où la même opération est répétée en ce qui concerne le tube n° 3, de façon à préparer finalement trois solutions diluées au dixième, au centième et au millième.

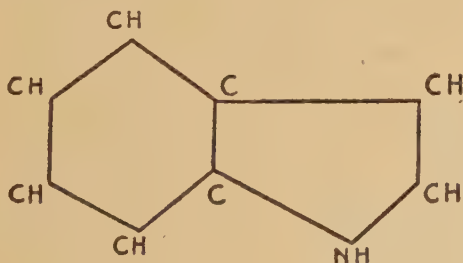
L'ensemencement se fait alors directement, en prélevant 1 cmc de chacune des dilutions et en l'ajoutant à chacun des trois tubes d'eau peptonée, en commençant, si l'on emploie la même pipette, Par l'ensemencement de la dilution la plus faible. Les trois tubes d'eau peptonée ont été préparés au préalable par l'ad-

jonction de XII à XV gouttes d'eau phéniquée à 5 %, antiseptique, qui a pour but de jouer un rôle neutralisant le développement des autres germes et qui ne nuit en aucune façon à la culture du colibacille.

Les tubes d'eau peptonée sont alors placés à l'étuve à 40-41°, température qui s'oppose à la culture d'autres germes, le proteus en particulier, alors qu'elle est voisine de la température de 38°, optima pour le développement du colibacille.

2° RECHERCHE DE L'INDOL.

Nous avons utilisé la Propriété que possède le colibacille de produire de l'indol dans les solutions de peptone; l'indol représentant au point de vue chimique un composé de la série hétérocyclique associant un noyau benzène à un noyau pyrrol selon la formule suivante :



Ce corps résulte de la dégradation des matières albuminoïdes de la solution de peptone sous l'influence de l'attaque du colibacille.

La production de l'indol dans un milieu peptoné est considérée, depuis les travaux de REMY et SUGG,

comme une réaction caractéristique de la présence du colibacille; elle est utilisée comme telle en pratique dans l'analyse des eaux et d'une façon générale dans la recherche du colibacille; malgré les critiques qui seront exposées au chapitre V, nous avons utilisé cette méthode, très commode en pratique, et considéré que les laits qui ne produisaient pas d'indol au bout de 48 heures d'étuve, ne contenaient pas de colibacilles et devaient être rejetés du cycle des analyses ultérieures.

La recherche a été effectuée après huit heures, douze heures, vingt-quatre et quarante-huit heures d'étuve; l'isolement des colonies de colibacille sur gélose lactosée tournesolée étant facilitée par sa mise en œuvre dès que la présence d'indol a été révélée dans la culture.

Parmi les nombreuses méthodes de recherche de l'indol, nous avons utilisé la technique suivante, adoptée au laboratoire de l'Institut d'Hygiène de Nancy.

Après prélèvement de quelques centimètres cubes de la solutionensemencée d'eau peptonée, on ajoute 1 cmc d'alcool amylique; après agitation, on laisse couler le long du tube quelques gouttes d'acide nitrique fumant; la présence d'indol se traduit par une coloration rouge caractéristique à la surface du tube. Le milieu reste incolore ou jaune verdâtre en cas de réaction négative.

A côté de cette méthode que nous avons systématiquement utilisée dans toutes les recherches d'indol,

nous avons pratiqué également les réactions de SALKOWSKY et de LEGAL-WEYL :

a) *Réaction de Salkowsky.* — A un tube contenant environ 15 cmc de culture, on ajoute XXX gouttes de solution de nitrite de Potassium à 1 pour 1.000, puis, en agitant légèrement et en laissant couler le long du verre XX gouttes d'acide sulfurique chimiquement pur, la présence de l'indol se traduit par une coloration rose.

b) *Réaction de Legal-Weyl.* — A un tube de culture, on a ajouté 4 à 5 gouttes de solution de nitroprussiate de soude à 5 pour 100, puis, après agitation, quelques gouttes de lessive de soude à 40 pour 100. Le liquide devient rougeâtre et en ajoutant environ 10 gouttes d'acide acétique cristallisable, la couleur vire au bleu-vert, s'il y a de l'indol.

La pratique simultanée des trois méthodes nous a chaque fois donné des résultats identiques; lorsque, par la méthode de l'acide nitrique, la formation d'une coloration jaune orangé ne permettait pas de conclure d'une façon formelle à la présence ou non d'indol, la réaction de LEGAL-WEYL nous a semblé plus particulièrement sélective : c'est d'ailleurs la méthode recommandée par BESSON.

3° IDENTIFICATION DU COLIBACILLE.

Les milieux ne contenant pas d'indol au bout de 48 heures ayant été définitivement abandonnés, les

autres sont repiqués en prélevant le liquide du tube indol-positif dans un nouveau tube d'eau peptonée phéniquée qui oppose un second barrage au développement des autres germes; on recherche l'indol dans ce deuxième tube au bout de 48 heures. L'identification a été conduite au moyen de trois épreuves :

- a) Virage de la gélose lactosée tournesolée,
- b) Ensemencement sur milieux sucrés,
- c) Constatation de la présence d'un bacille Gram négatif ayant les caractéristiques morphologiques du colibacille.

a) On prélève aseptiquement à l'aide d'un fil de Platine une öse d'eau peptonée ayant donné une réaction d'indol positive; la gouttelette ainsi déposée est aussitôt étalée sur toute la surface de la gélose à l'aide d'un répartiteur qui servira à un deuxième étalement sur une deuxième boîte de gélose.

Ces deux boîtes sont placées à l'étuve à 41°, température dysgénésique, nous le rappelons, pour le « proteus » qui, à des températures inférieures, envahit souvent les boîtes, rendant l'identification des autres germes difficile, sinon impossible.

Les boîtes sont renversées, de façon que l'eau de condensation reste sur le couvercle et non sur la surface ensemencée. Au bout d'une dizaine d'heures, on remarque la présence de colonies diverses que l'expérience permet déjà de différencier. Le colibacille pousse en colonies rouges translucides et la gélose elle-même prend une teinte rouge dans une large zone autour de ces colonies par fermentation du lactose, pro-

duisant de l'acide lactique qui fait virer le tournesol; si les colonies sont nombreuses, une plus ou moins grande partie de la boîte peut ainsi avoir rougi; l'opacité plus grande des colonies de staphylocoques est assez caractéristique, mais, d'une façon générale, le seul examen des colonies n'est pas suffisant pour affirmer le diagnostic de colibacille que l'épreuve de la fermentation des sucres et l'examen microscopique doivent encore venir étayer.

Si les colonies de colibacilles sont suffisamment nombreuses et isolées les unes des autres, on peut recourir directement à l'examen microscopique et à l'épreuve des sucres à partir de l'une d'elles, mais dans la majorité des cas, nous avons dû repartir d'une colonie, ensemençer en eau phéniquée Peptonée, puis, au bout d'une douzaine d'heures d'étuve, ensemençer sur gélose lactosée tournesolée, de façon à obtenir cette fois des boîtes de PETRI renfermant presque exclusivement des colonies de colibacilles.

b) Dans chaque boîte de PETRI, où la présence de colonies ayant les caractères décrits ci-dessus faisait présumer l'existence de colibacilles, nous avons prélevé aseptiquement une parcelle de ces colonies, de façon à rechercher l'existence d'un bacille Gram négatif, ayant les caractéristiques morphologiques du colibacille; l'examen a porté surtout sur la pureté de la colonie et l'absence d'autres germes, de subtilis en particulier, dont la tendance rapidement envahissante ne tarde pas à étouffer la prolifération du colibacille et à le remplacer dans un milieu d'isolement qui parais-

sait initialement Pur d'autres germes. Toutes les fois où l'examen microscopique nous a donc révélé la présence d'un bacille Gram négatif à l'exclusion de tout autre germe nous avons aussitôt ensemencé sur gélose inclinée une partie de la colonie, point de départ de l'examen microscopique. Après vingt-quatre heures d'étuve à 40°, nous avons obtenu une souche de colibacilles portant le numéro du lait d'où elle provient.

c) Pratiquement les examens précédents suffisent pour affirmer le diagnostic du colibacille, puisque l'association : production d'indol — aspect spécial des colonies et virage de la gélose lactosée tournesolée-bacille de Gram négatif — n'est produite Par aucun autre germe; mais nous avons tenu dans un certain nombre de laits qui seront spécifiés ultérieurement, à compléter l'identification par les réactions classiques du colibacille en présence de six sucres : saccharose, lactose, glucose, mannite, dulcité et maltose; le saccharose n'étant pas attaqué par les variétés fécales, et la dulcité ne l'étant que par les souches de coli fécaux. Nous avons donc préparé six tubes d'eau peptonée légèrement tournesolée (une ampoule de teinture de tournesol pour trois tubes de 10 cmc d'eau peptonée) en ajoutant à chacun d'eux 1,5 cmc d'une solution de saccharose, lactose, glucose, mannite, dulcité et maltose à 2 P. 100. Ces tubes ont alors été ensemencés soit au départ d'une colonie nettement individualisée sur gélose lactosée tournesolée contenant des bacilles Gram négatif, soit d'après une souche renfermant déjà du colibacille isolé; ils ont été placés vingt-quatre heu-

res à l'étuve; les mêmes constatations ont pu être faites que pour la gélose lactosée tournesolée sur tous les tubes, sauf pour celui contenant la solution de saccharose : virage du milieu provoqué par les germes coli ensemencés dont la multiplication et le développement s'attestent par l'aspect trouble des tubes.

Les souches isolées de colibacilles ont été placées à la glacière et repiquées chaque mois sur gélose inclinée.

2° IDENTIFICATION DU GROUPE COLI AEROGENES.

Les procédés de détermination des groupes coli et aerogenes sont très nombreux; nous nous sommes borné à utiliser ceux décrits par MM. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et T. CHU dans la *Revue d'Hygiène* d'avril 1931, pour l'isolement et l'identification des bacilles des eaux. Ces procédés sont depuis employés couramment dans l'analyse des eaux. Ce sont les trois réactions au rouge de méthyle, de VOSGES-PROSKAUER et de KOSER.

Les souches doivent pour les réactions au rouge de méthyle, de VOSGES-PROSKAUER, être cultivées au préalable sur milieu de CLARK et LUB.

a) *Milieu de Clark et Lub.* — Sa composition est la suivante :

Peptone de WITTE	}	aâ 5 grammes.
Glucose		
Phosphate bi-potassique		
Eau distillée		1.000 cmc.

On distribue en tubes de 10 cmc; stérilisation à 100° pendant vingt minutes trois jours consécutifs; la réaction du milieu doit avoir un pH de 7,5.

Nous avons ensemencé chacune de nos souches de colibacille dans ce milieu et laissé trois jours à l'étuve à 37°; le colibacille se développe dans ce milieu de culture et trouble le bouillon. Le contenu du tube est alors divisé en deux parties égales de 5 cmc sur lesquelles seront pratiquées les réactions au rouge de méthyle et de VOSGES-PROSKAUER.

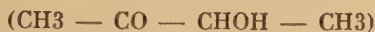
b) *Réaction au rouge de méthyle.* — Le rouge de méthyle est un indicateur de pH qui donne une couleur rouge jusqu'à PH 4,6 et jaune au-dessus de ce chiffre. La solution de l'indicateur est pour cette réaction préparée de la façon suivante : on dissout 0,1 gr. de rouge de méthyle dans 300 cmc d'alcool et on ramène le volume à 500 cmc avec de l'eau distillée. La teneur en rouge de méthyle est donc de 0,02 p. 100. On utilise cette solution dans la proportion de quatre gouttes pour 10 cmc de culture. Le virage rouge indique une réaction positive et la présence de coli fécal; le virage jaune ou la non-coloration du milieu une réaction négative et la présence de coli aerogenes.

c) *Réaction de Vosges-Proskauer.* — Cette réaction fait partie des six méthodes d'examen prévues dans la « Standard method of water analysis », par l'Association des Bactériologistes américains pour l'arecon-

naissance de l'origine fécale du *Bacterium coli*; ces méthodes sont :

Réaction du rouge de méthyle ...	Positive.
Réaction de VOSGES-PROSKAUER	Négative.
Gélatine	Pas de liquéfaction.
Adonite	Pas de fermentation.
Recherche de l'indol	Positive.
Saccharose	Pas de fermentation.

Le principe de cette réaction est de mettre en évidence la production de l'acétyl-méthyl-carbinol par le microbe à l'étude, l'oxydation de l'acétyl-méthyl-carbinol :



en 2-3 butane dione (diacétyl;



peut s'effectuer sous l'influence de l'oxygène et de l'alcali et le diacétyl donne une coloration rose en réagissant sur les peptones. La réaction est positive quand on obtient une coloration rouge et fluorescente rappelant celle des solutions faibles d'éosine ou la couleur fleur de pêcher. Cette réaction est assez délicate à obtenir, diverses techniques sont employées : celle qui est utilisée régulièrement au laboratoire de l'Institut d'Hygiène est le procédé à la solution concentrée de soude que nous avons employé :

On met dans un verre de montre 1 cmc d'une culture provenant du milieu de CLARK et LUB; on ajoute 1/2 cmc d'une solution de soude à 45 p. 100 La teinte rose apparaît en une vingtaine de minutes et elle doit atteindre son maximum en deux heures. La réaction

positive indique la présence de la variété aerogenes; négative, elle signifie possibilité de variété fécale.

d) *Réaction de Koser.* — Cette épreuve se pratique directement à partir des souches sans passer par le milieu de CLARK et LUB. Elle consiste à essayer de cultiver le colibacille à l'étude dans le milieu synthétique dont KOSER a donné la formule et où le coli fécal pousse très mal, tandis que l'aerogenes s'y développe abondamment. On prépare ainsi ce milieu :

Nacl	5 gr.
Mg (SO4) (7 H2O)	0 gr. 2.
(NH4) H2 PO4	} aâ 1 gr.
K2 H PO4	
Citrate de soude	2 gr. 77.
Eau distillée	1.000 cmc.

en y ajoutant une solution alcoolique de bleu de bromothymol à 1,5 p. 100, la réaction du milieu doit être neutre ou peu acide (PH : 6,7-6,9).

On le stérilise à 115° pendant quinze minutes. Dans ce milieu l'azote est fourni par l'ammoniaque que le groupe coli fécal-aerogenes peut utiliser; mais le carbone fourni par le citrate n'est profitable que pour l'aerogenes. Le colibacille fécal est donc à peu près inapte à pousser dans ce milieu, tandis que l'aerogenes s'y développe en 24 heures à 37° et donne des colonies bleues.

3° AUTRES MÉTHODES DE DIAGNOSTIC ET D'IDENTIFICATION DES COLIBACILLES.

De nombreuses méthodes, en général, variantes de celles précédemment décrites, existent pour la recherche et la détermination des colibacilles.

Nous ne les avons pas utilisées, aussi nous contenterons-nous de rappeler les principales, renvoyant aux ouvrages indiqués à la Bibliographie pour plus amples détails.

Pour le diagnostic du colibacille, M. NEVOT, dans la *Pratique Médicale Française* de mars 1932, indique une technique légèrement différente de celle que nous avons suivie : au lieu de faire un seul barrage phéniqué, il en ajoute un second à la gélose minéralisée de KUFFERATH, qui est ensuite lactosée et tournesolée; ce milieu est préparé de la façon suivante :

Eau distillée	200 cc.
Phosphate-bipotassique	1 gr. 5.
Nitrate d'ammoniaque	20 gr.
Carbonate de soude	} aa - 2 gr.
Sulfate de soude	
Sulfate de magnésie	3 gr. 5.
Sulfate de potasse	0 gr. 5.

Bien l'agiter, en prélever 50 cmc et y ajouter :

Eau ordinaire	950 cc.
Lactose	15 gr.
Gélose	15 gr.

Les opérations ultérieures s'apparentent ensuite à la technique que nous avons suivie.

Nous citerons en outre le procédé de VINCENT au bouillon Phéniqué, le procédé de la bile peptonée lactosée à la bile additionnée de vert brillant à la gélose de TEAQUE-LEVINE, milieu particulièrement intéressant puisqu'il permettrait de faire, d'après son auteur, en même temps, l'isolement et la différenciation du groupe aerogenes. Sa composition est la suivante :

Peptone	10 gr.
Phosphate bi-potassique	2 gr.
Gélose	25 gr.
Eau distillée	1.000 cmc.

Sans alcalinisation, ni filtration, on répartit la solution en matras de 100 cmc et on stérilise à 115° pendant vingt minutes. Un peu avant l'emploi, on fait fondre la gélose ainsi préparée et on ajoute dans chaque matras les solutions suivantes :

Solution stérile de lactose à 20 p. 100	5 cmc.
Solution aqueuse d'éosine à 2 p. 100	} à 2 cmc.
Solution aqueuse de bleu de méthylène à 0,5 p. 100	

On coule le mélange en boîtes de PETRI, on sème une ou deux gouttes d'une culture de vingt-quatre ou quarante-huit heures (provenant d'un milieu à la bile ou à la bile additionnée de vert brillant) en prenant soin de les étaler sur toute la surface de la plaque à l'aide d'un répartiteur stérile. Il est préférable d'ensemencer deux plaques de PETRI avec le même répartiteur sans le recharger. Mises à l'étuve à 37° pendant 24 ou 48 heures, les caractères différentiels entre *Bacterium coli* et *Bacterium aerogenes* sont les suivants :

Les colonies de coli fécal sont bien isolées, d'un

diamètre de 2 à 3 mm., elles sont parfois plates ou légèrement concaves. Le centre est sombre et presque noir; la structure interne de la portion centrale est difficile à discerner. Vue par réflexion la colonie a un aspect gris métallique très caractéristique.

Les colonies du groupe B. aerogenes ont un diamètre de 4 à 6 mm. et quelquefois plus; elles sont remarquablement convexes; le centre est plus petit que celui d'une colonie de B. coli type; il a une couleur brun foncé moins noir que celui du B. coli; par réflexion la colonie ne présente jamais d'aspect métallique.

En dehors de cette méthode qui semble présenter un grand intérêt, citons la gélose aux trois colorants: de SKINNER et MURREY (c'est le milieu de TEAQUE-LEVINE additionné de violet de gentiane), le milieu synthétique d'AYERS et RUPP et la gamme d'indol de DIENERT et GUILLERD, procédé plus long et plus compliqué.

CHAPITRE IV

Résultats fournis par les Laits crus et pasteurisés

Étude critique de leur Valeur

I. Résultats obtenus.

a) Laits crus. Examen du temps de production de l'indol.

Colimétrie : tables par arrondissements et par cantons. Pourcentage de laits souillés.

Détermination des variétés aerogenes et fécales; résultats dans l'ordre d'analyses : pourcentage. Etude comparée des résultats.

b) Laits corrigés. Tableau des résultats fournis. Essai d'explications de l'insuffisance encore trop grande de la qualité hygiénique de ces laits.

II. Critique des techniques employées; valeur de la réaction de l'indol.

CHAPITRE IV

I. - Résultats fournis par les Laits crus et pasteurisés

La recherche du colibacille et la détermination de sa variété donnant naturellement des résultats fort différents selon que les analyses concernent des laits de ramassage ou des laits traités industriellement par la pasteurisation ou la stassanisation, nous examinerons successivement à ce point de vue les laits « crus », les laits « corrigés » ensuite, réservant pour la fin du chapitre une étude critique sur la valeur des résultats obtenus en fonction des techniques employées.

A. — LAITS CRUS.

Les nécessités matérielles font que ces laits proviennent en majorité des environs immédiats de l'agglomération nancéienne, comme l'indiquent les tableaux suivants. La production de ces villages étant très importante, par suite de la capacité d'utilisation de la ville de Nancy, nous pensons que les résultats n'en sont pas faussés pour l'ensemble du département.

Les laits qui nous ont été remis étaient propres.

Il faut voir surtout dans cette propreté extérieure l'influence d'une opinion publique urbaine qui, avérée par la presse et l'école, répugne d'elle-même à recevoir un lait extérieurement sale.

Dans tous les échantillons analysés nous n'avons pas eu de laits colorés par des bactéries chromogènes; la quantité moyenne recueillie pour pratiquer chaque analyse était de 150 cmc environ, suffisante pour déceler des souillures extérieures ou apprécier la coloration du liquide. Pratiquement, la quantité nécessaire de chaque lait qui fut utilisée pour les analyses suivantes fut de 1 cmc environ.

1° *Recherche de l'indol après culture
en eau peptonée phéniquée.*

Cette réaction recherchée sur 100 échantillons nous donna : 61 réactions positives par la méthode à l'acide nitrique fumant, dont 58 furent nettement positives, donnant une coloration rouge caractéristique, au moins dans les dilutions au dixième; parmi elles, 6, dans ces mêmes dilutions au dixième, n'étaient pas très nettes, la coloration tirant plutôt sur le jaune orangé; dans ces six cas, la mise en évidence de l'indol fut demandée à la technique précédemment exposée de LEGAL-WEYL; pour trois laits, cette réaction fut positive; tous les autres qui ne présentaient pas l'indol après 48 heures d'étuve à 41°, soit 39 p. 100, furent considérés comme ne renfermant pas de germe du type coliba-

cille. Les 61 échantillons qui présentèrent une réaction positive nous donnèrent ce résultat dans les laps de temps indiqués dans le graphique ci-dessous :



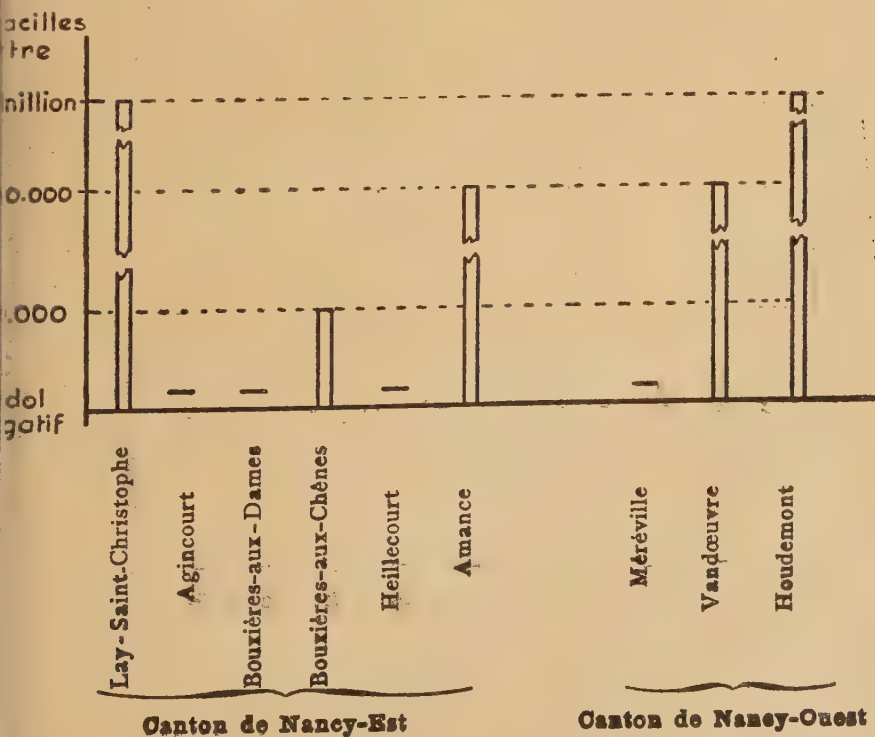
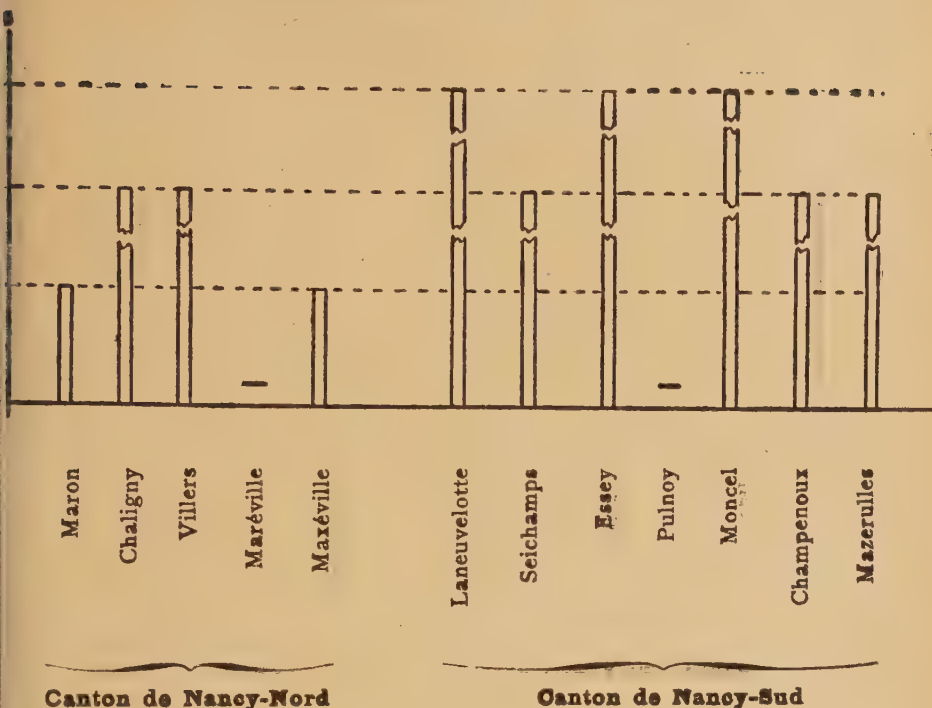
Un minimum de douze heures est donc nécessaire pour que les colibacilles Présents dans un lait ensemençé en eau peptonée aient suffisamment dissocié la molécule albuminoïde pour produire de l'indol, le temps optimum étant compris entre la douzième et la vingt-quatrième heure, quatre cinquièmes de ces laits donnant lieu, dans cet intervalle, à une réaction positive; 8 laits nous donnèrent de l'indol entre vingt-quatre et trente-six heures d'étuve et seulement trois au delà de trente-six heures.

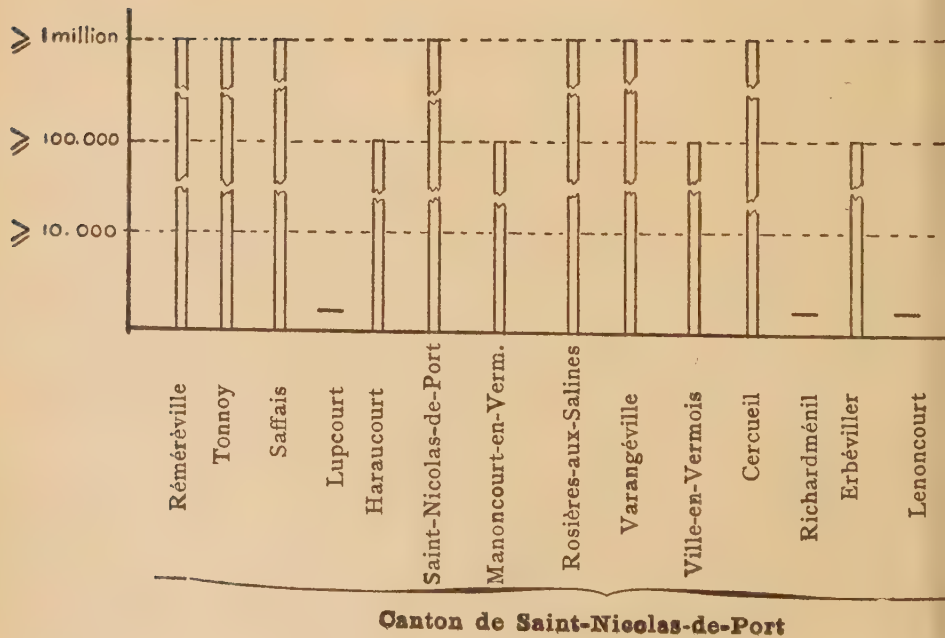
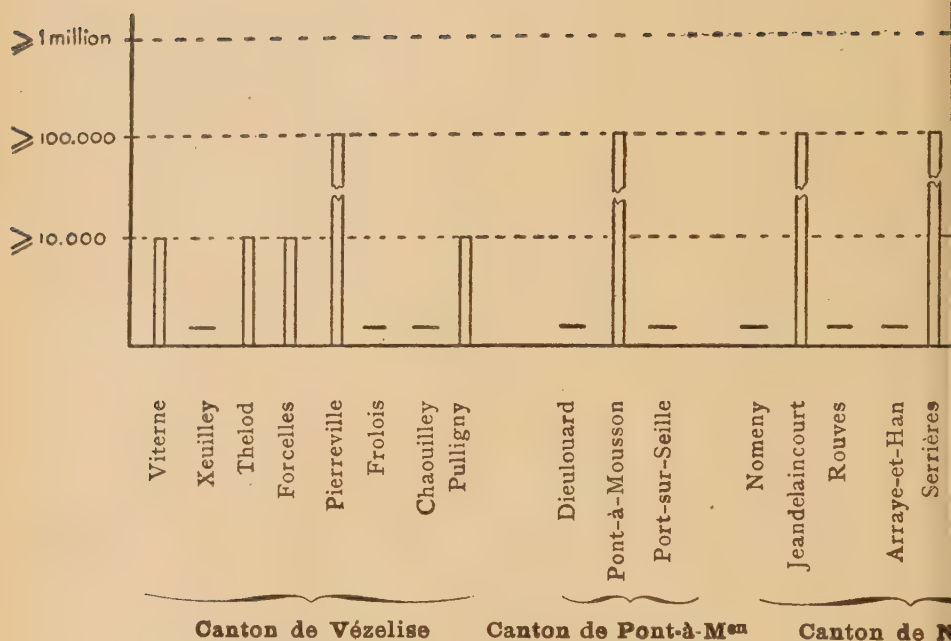
2° Colimétrie.

Cette opération a pour but d'évaluer le nombre de colibacilles d'un litre de lait; étant donné les dilutions au dixième, centième et millième effectuées dans nos ensemencements à partir d'un centimètre cube, la présence d'une réaction indol positive dans ces dilutions indique respectivement la présence d'un minimum de 10.000, de 100.000 et de 1 million de colibacilles au litre.

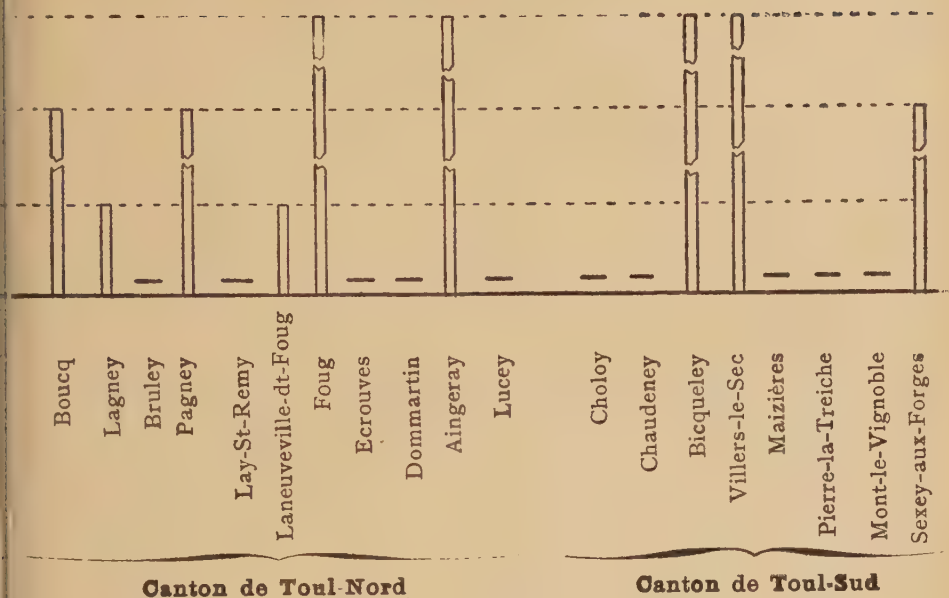
Nous avons obtenu les résultats suivants, classés en fonction des subdivisions administratives du département et portant sur l'ensemble des laits analysés.

1) Arrondissement de Nancy

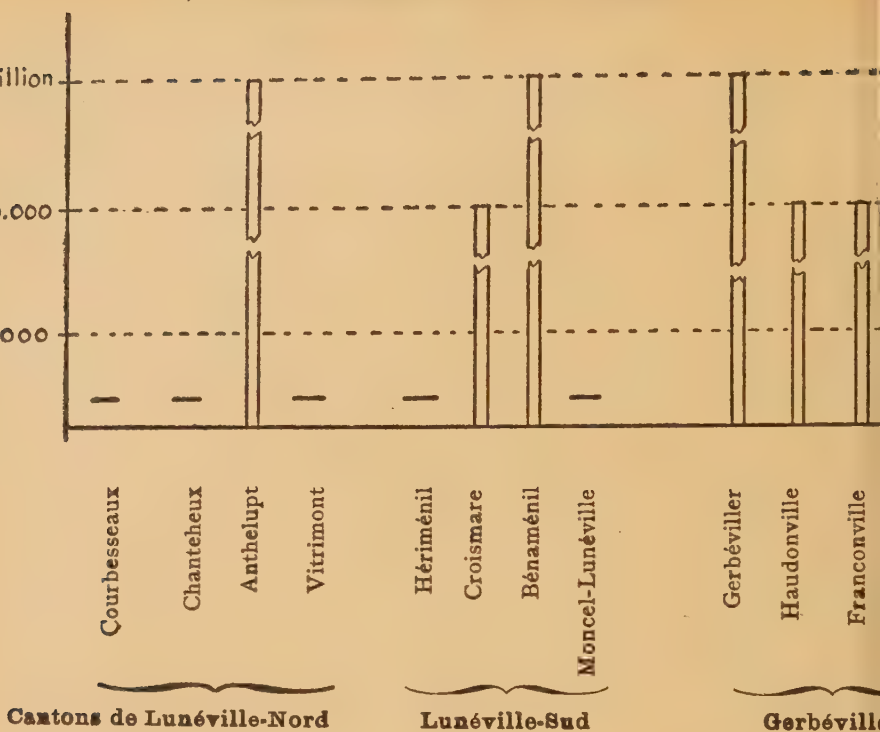




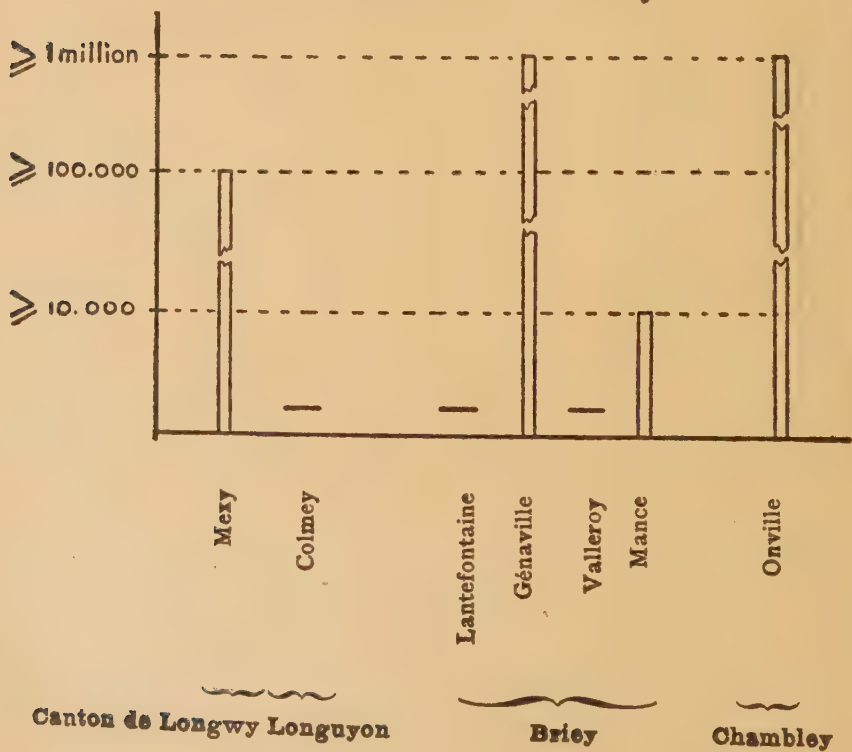
2) Arrondissement de Toul



3) Arrondissement de Lunéville



4) Arrondissement de Briey



Dans un lot de cent laits crus de provenances diverses, 61 accusent donc la présence de colibacilles et parmi eux :

- 12 % contiennent plus de 10.000 colis au litre;
- 26 % plus de 100.000 colis au litre;
- 23 % dépassent une teneur de 1 million au litre.

En nous tenant aux conclusions auxquelles se sont arrêtés les auteurs considérant que la teneur d'un lait hygiénique ne doit pas excéder 10.000 colibacilles au litre, il résulte que 39 p. 100 des laits, en ne tenant compte que du facteur souillure par colibacilles, sont seuls acceptables durant la période d'hiver, époque la plus favorable. Le fait que 23 P. 100 des analyses indiquent une teneur supérieure à un million de colibacilles au litre est hautement significatif de l'extrême pollution de ces laits et du danger qu'ils représentent, puisque ces quantités correspondent le plus souvent à une flore microbienne de plusieurs millions de germes au litre, atteignant même le milliard dans certains cas, comme le montrent les tableaux précédents, où les différentes régions agricoles du département nous présentent des laits crus d'une qualité hygiénique aussi inférieure ne permettant pas une classification.

Ces résultats sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus par MM. J. PARISOT, MELNOTTE et FERNIER, admettant dans leur étude sur « L'Hygiène du Lait dans le département de Meurthe-et-Moselle » une proportion de laits acceptables de 43 p. 100 durant la période d'hiver (contre 14,2 p. 100 pendant l'été).

A l'étranger, dans les pays où il n'existe pas de surveillance hygiénique des laits, la colimétrie donne des

résultats souvent plus défavorables encore que dans le département de Meurthe-et-Moselle : c'est ainsi qu'une statistique de Bucarest, publiée par MM. ODAISKI et BAIES, donne seulement une proportion de 20 pour 100 de laits acceptables pendant l'hiver.

En Italie, MM. GORRIERI et ZAVAGLI signalaient, en 1932, que dans une étable pourvue cependant d'une bonne hygiène moyenne, 81 p. 100 des échantillons analysés à leur sortie de l'étable contenaient encore plus de 1.000 colibacilles du type fécal au litre.

3° Détermination de la variété coli-aerogenes des souches de colibacilles.

Les résultats obtenus sont figurés dans le tableau ci-dessous; ils sont rangés par ordre d'analyses et portent en regard de chaque lait, outre le résultat de la réaction de l'indol, déterminant selon sa positivité ou non, l'expérimentation ultérieure, le résultat des trois réactions du rouge méthyle, de VOSGES-PROSKAUER et de KOSER, servant à la différenciation des variétés coli fécal et aerogenes.

ORIGINE	Indol	Rouge méthyle	Vosges Proskauer	Koser	CONCLUSIONS
—	—	—	—	—	—
1. Pierreville	+	+	—	—	fécal
2. Choley	—				
3. Lay-St-Christ. .	+	—	+	+	aerogenes
4. Réméréville ...	+	proteus			
5. Xeuilley	—				
6. Essey-l.-Nancy .	+	proteus			
7. Frolois	—				
8. Seichamps . . .	+	+	—	—	fécal
9. Agincourt , ...	—				

ORIGINE	Indol	Rouge méthyle	Vosges Proskauer	Koser	CONCLUSIONS
—	—	—	—	—	—
10. Maizières-l.-T. .	—				
11. Thélod	+	+	—	—	fécal
12. Art-sur-Meurthe.	—				
13. Pierre-l.-Treiche	—				
14. Dommartin . . .	—				
15. Viterne	+	+	—	—	fécal
16. Germiny	+	+	—	—	fécal
17. Maréville	—				
18. Villers	+	proteus			
19. St-Nic.-de-Port .	+	+	+	—	indéterminé
20. Manoncourt-en- Vermois	+	—	+	+	aerogenes
21. Houdemont . . .	+	+	—	—	fécal
22. Maron	+	+	—	—	fécal
23. Varangéville . .	+	—	+	+	aerogenes
24. Arnville	+	+	—	—	fécal
25. Onville	+	+	—	—	fécal
26. Dieulouard . . .	—				
27. Foug	+	+	—	—	fécal
28. Pont-à-Mousson.	+	+	—	—	fécal
29. Aingeray	+	+	—	—	fécal
30. Villey-St-Etien..	+	+	—	—	fécal
31. Heillecourt . . .	—				
32. Chaudenay . . .	—				
33. Lay-St-Rémi . .	—				
34. Ville-en-Vermois	+	+	—	—	fécal
35. Cercueil	+	+	—	—	fécal
36. Rosières - aux - Salines.	+	—	+	—	indéterminé
37. Haraucourt . .	+	+	—	—	fécal
38. Bruley	—				
39. Lagny	+	+	—	—	fécal
40. Ecrouves	—				
41. Chaligny	+	+	—	—	fécal
42. Villers-le-Sec . .	+	+	—	—	fécal
43. Bicqueley	+	+	—	—	fécal
44. Moncel	+	+	—	—	fécal
45. Gerbéviller . . .	+	—	+	+	aerogenes

ORIGINE	Indol	Rouge méthyle	Vosges Proskauer	Koser	CONCLUSIONS
46. Pulnoy	—				
47. Bénaménil . . .	+	+	—	—	fécal
48. Pagny-derrière- Barine	+	—	+	+	aerogenes
49. Bouxières - aux- Chênes	+	—	+	+	aerogenes
50. Bouxières - aux- Dames	—				
51. Maxéville	+	+	—	—	fécal
52. Vandœuvre . . .	+	+	—	—	fécal
53. Richardménil ..	—				
54. Laneuveville- derrière-Foug. . .	+	+	—	—	fécal
55. Boucq	+	+	—	—	fécal
56. Génerville	+	+	—	—	fécal
57. Colmey	—				
58. Mexy	+	+	—	—	fécal
59. Valleroy	—				
60. Courbesseaux ..	—				
61. Croismare	+	—	+	+	aerogenes
62. Chanteheux . . .	—				
63. Forcelles	+	+	—	+	indéterminé
64. Chaouilley	—				
65. Tonnoy	+	+	—	—	fécal
66. Lucey	—	+	—	—	fécal
67. Mont-l.-Vignoble	—				
68. Saffais	+	—	+	+	aerogenes
69. Lupcourt	—				
70. Sexey-aux-Forg.	+	+	—	—	fécal
71. Jeandelaincourt.	+	—	+	+	indéterminé
72. Serrières	+	+	—	—	fécal
73. Nomeny	—				
74. Rouve	—				
75. Port-sur-Seille .	—				
76. Champenoux ...	+	+	—	—	fécal
77. Eberviller	+	—	+	+	aerogenes
78. Arraye-et-Han. .	—				
79. Haudonville . . .	+	+	—	—	fécal

ORIGINE	Indol	Reuge méthyle	Vesgen- Preskauer	Koser	CONCLUSIONS
80. Franconville . .	+	+	—	—	fécal
81. Pulney	—				
82. Royaumeix . . .	—				
83. Pulligny	+	+	—	—	fécal
84. Ferrières	+	+	—	—	fécal
85. Moivrons	+	—	+	+	aerogenes
86. Mazerulles	+	+	—	—	fécal
87. Méréville	—	+	—	—	fécal
88. Moncel-Lunév. .	—	+	—	—	fécal
89. Lantifontaine . .	—				
90. Hériménil	—				
91. Vitrimont	—				
92. Laneuvelotte . .	+	+	—	—	fécal
93. Amance	+	+	—	—	fécal
94. Rechainviller . .	+	+	—	—	fécal
95. Barizey-au-Plain	—				
96. Barizey-la-Côte .	+	+	—	—	fécal
97. Anthelupt	+	+	—	—	fécal
98. Mance	+	—	+	+	aerogenes
99. Létrécourt	—				
100. Crépey	+	+	—	—	fécal

Il résulte du tableau ci-dessus que sur 61 souches isolées de colibacilles nous ayant donné les principales caractéristiques de l'espèce, c'est-à-dire : la production d'indol en eau peptonée phéniquée, le développement et le virage sur gélose lactosée tournesolée, la fermentation des sucres et la présence dans les souches d'une seule espèce microbienne : un bacille Gram négatif,

46 se révèlent être constituées de la variété fécale,

12 de la variété aerogenes,

3 restent indéterminées.

Alors que la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître que la variété aerogenes l'emporte sur la

variété fécale, nous avons obtenu 80 p. 100 environ de souches fécales pour 20 p. 100 d'aerogenes; ce résultat indique évidemment la souillure fécale indirecte très marquée des laits analysés, mais la proportion relative des variétés aerogenes et fécale a pu être faussée par les procédés même d'analyse, comme il sera expliqué ultérieurement. M. MARCHE, dans une thèse récente sur le lait, ayant employé les mêmes techniques obtint également un très faible pourcentage d'aerogenes de 18,5 p. 100.

Quant aux trois indéterminées, les réactions de VOSGES-PROSKAUER du rouge méthyle et de KOSER donnaient, comme il est indiqué dans le tableau précédent, des résultats contradictoires.

Ces souches d'origine ont été repiquées, les réactions faites de nouveau sans que la concordance des résultats ait pu être réalisée : il s'agit donc vraisemblablement de ces souches indéterminées sur lesquelles M^{me} Irène LIPSKA a attiré l'attention, que leurs caractéristiques bactériologiques placent à égale distance des espèces « commune » et « aerogenes », et dont nous avons signalé l'existence au chapitre II.

L'examen global des tableaux de colimétrie et de distinction des variétés « coli-fécal » et « coli aerogenes » donne donc 61 p. 100 de laits produisant de l'indol, dans la première statistique, et 61 p. 100 également de ces laits ayant permis l'isolement de souches de colibacilles dans la seconde, d'où concordance absolue entre les deux statistiques : tous les laits ayant eu une réaction d'indol positive ont fourni les souches correspondantes.

Un examen détaillé montre que ce résultat n'est atteint que parce que trois laits ayant Présenté une réaction d'indol positive, mais n'ayant pas ensuite permis l'isolement d'une souche, sont compensés par trois autres laits qui, indol négatif, nous ont ensuite fourni des souches de colibacilles typiques.

L'explication de ces faits est la suivante :

a) Les laits n° 4, 6 et 18 en provenance de Rémérville, d'Essey-lès-Nancy, Villers ayant donné de l'indol dans les dilutions au millième pour les deux premiers et au centième pour le troisième n'ont donné ensuite sur gélose lactosée tournesolée que des colonies bleues envahissantes, offrant tous les caractères de l'espèce « proteus » et ne faisant pas virer la gélose lactosée tournesolée; des souches isolées à partir de ces boîtes n'ayant pas fait fermenter le lactose, le diagnostic de « proteus » nous a paru légitime; c'est à partir du lait 18 que nous avons utilisé l'étuve à 41° pour éliminer, dans la mesure du possible, la culture du proteus; pratiquement, le résultat a été concluant, puisque, dans la suite, nous n'avons plus eu à rencontrer ce germe.

b) Les laits n° 66, 87 et 88 de Lucey, Méréville et Moncel-Lunéville, indol négatif dans les trois dilutions ensemencées, nous ont permis ensuite d'isoler trois souches de colibacilles typiques, grâce à l'emploi d'une méthode qui sera exposée dans le chapitre suivant.

B. — LAITS CORRIGÉS.

Il était intéressant d'appliquer les techniques précédentes aux laits corrigés industriellement par les procédés de « pasteurisation » ou de « stassanisation », dont le but est en somme la correction bactériologique du lait; et d'examiner en particulier si le colibacille fécal se rencontrait encore dans ces laits; et dans l'affirmative si ce taux égalerait ou excéderait la quantité de 10.000 germes au litre.

Nous avons donc analysé dans ce but vingt laits ayant subi : dix, l'épreuve de la pasteurisation, et dix celle de la stassanisation. Ces laits sont livrés dans le commerce en bouteilles cachetées, condition nécessaire avec une mise en bouteille aseptiquement effectuée, pour que de nouveaux germes ne viennent pas souiller le lait soumis à ces corrections. Dans un département voisin, où il existe des usines de pasteurisation, le lait, après l'opération, est simplement remis en brochons et distribué à la population dans les mêmes conditions, aussi peu hygiéniques, que celles des laits crus. Ces laits, par le mot de pasteurisation, offrent une sécurité trompeuse au public; leur analyse, comme il est aisé de le prévoir, donne des quantités de germes et de colibacilles sensiblement égales à celles des laits crus.

En ce qui concerne la technique suivie, nous avons procédé comme pour l'analyse des laits crus, modifiant simplement les dilutions à l'ensemencement en eau peptonée phéniquée; étant donné la pauvreté probable en germes du type colibacille, heureusement

confirmée Par l'analyse, nous avons été conduits à ensementer des quantités beaucoup plus importantes de lait et nous avons choisi des quantités de 1/10 de centimètre cube (correspondant, si indol positif, à une teneur au moins égale à 10.000 colibacilles au litre), 1 cmc et 5 cmc; ces quantités de lait, étant donné les remarques faites au chapitre III, étant plus importantes que celles employées dans l'analyse des laits crus, ont été ensementées cette fois respectivement dans 10 cmc, 20 cmc et 30 cmc d'eau peptonée, phéniquée dans les mêmes proportions; les résultats suivants ont été obtenus :

Numéros des Laites	1/10 de cmc	1 cmc	5 cmc	Germe isolé
1	indol	+	+	fécal
2	indol	+	+	aerogenes
3	0	0	indol	indéterminé
4	indol	+	+	fécal
5	0	0	0	
6	indol	+	+	fécal
7	0	0	0	
8	0	indol	+	aerogenes
9	0	0	0	
10	0	indol	+	fécal
11	0	0	0	
12	0	indol	+	fécal
13	0	0	indol	fécal
14	0	0	indol	fécal
15	0	0	0	
16	0	indol	+	aerogenes
17	0	0	0	
18	0	0	indol	fécal
19	0	0	0	
20	0	0	indol	fécal

Les conclusions de ce tableau sont les suivantes :
sur 20 laits ayant subi une correction industrielle,

quatre, soit 20 p. 100, Présentent encore une teneur en colibacilles au moins égale à 10.000 unités; les quinze autres, soit 80 p. 100, s'avèrent comme des laits corrects au point de vue colibacilles, se répartissant ainsi:

1° 20 p. 100 contiennent de 1.000 à 10.000 colis au litre,

2° 25 p. 100 de 200 à 1.000 colis au litre,

3° 35 p. 100 moins de 200 colibacilles au litre.

Ce pourcentage de 20 p. 100 de laits contenant une quantité égale ou supérieure à 10.000 colibacilles au litre après correction, dépasse assez nettement les conclusions des auteurs qui se sont déjà livrés à cette étude. Le hasard nous a sans doute donné en partage une série malheureuse et il est évident qu'une seule étude de vingt laits est insuffisante pour étayer un pourcentage. Quoi qu'il en soit, la comparaison entre les résultats d'analyse des laits crus et ceux des laits corrigés Par la pasteurisation ou la stassanisation démontre d'une façon évidente l'amélioration considérable du point de vue de l'hygiène apportée par ces méthodes :

39 p. 100 des laits crus seuls acceptables,

80 p. 100 des laits traités.

La correction industrielle des laits théoriquement parfaite se révèle donc en pratique d'une efficacité seulement relative. La cause en réside soit dans un manque de perfection des méthodes employées, soit dans des techniques défectueuses provenant d'un mauvais fonctionnement des appareils, soit enfin d'une souillure ultérieure entre la sortie des appareils et la

mise en carafes du lait ou de l'association des trois facteurs. Le *Premier* semble important : la pasteurisation ou la stassanisation ne stérilisent pas le lait ; leur but est simplement de le rendre hygiéniquement acceptable en diminuant considérablement la quantité de germes qu'il contient ; le *second* nous semble négligeable étant donné les appréciations élogieuses de MM. GOEPFERT et MARCHE sur la technique suivie dans les usines nancéiennes de correction des laits ; le *troisième*, c'est-à-dire la souillure par germes extérieurs avant la mise en carafes, nous semble avoir en grande partie la responsabilité du pourcentage encore élevé des laits hygiéniquement incorrects trouvés après ces opérations.

Les résultats donnés par M. MARCHE à la sortie du pasteurisateur sont, en effet, très nettement supérieurs (pas de colibacilles rencontrés dans 20 cmc de lait, c'est-à-dire moins de 50 germes au litre), à ceux que nous avons indiqués. Etant donné par ailleurs que les laits industriellement traités sont conservés le plus souvent dans des frigidaires et que la température extérieure prédispose peu durant les mois d'hiver à la multiplication de la flore, nous retenons surtout ce dernier facteur comme responsable de l'augmentation des germes.

Quant au rapport des variétés fécales et aerogenes, il est sensiblement le même que dans l'analyse des laits crus ; les procédés de détermination des deux variétés ayant été les mêmes, ce résultat est conforme à la logique.

En résumé, nous retiendrons de cette analyse succincte que la qualité hygiénique des laits industriellement traités l'emporte considérablement sur celle des laits crus.

II. - Critique des Procédés employés

Les résultats précédemment énoncés ont été obtenus par l'application des techniques décrites au chapitre III et minutieusement suivies, leur interprétation mérite quelques commentaires; certaines de ces méthodes en effet n'ont pas une valeur absolue et ne sont pas spécifiques du seul colibacille; leur étude critique peut en partie expliquer notamment la proportion relativement faible de la variété aerogenes par rapport à la fécale.

Nous avons ainsi considéré que la production d'indol était un test de présence du colibacille et divisé les laits en deux catégories, selon la positivité ou non de cette réaction; or, il existe d'autres germes indologènes que le colibacille, le proteus en particulier. Nous avons éliminé ce germe en employant l'étuve à 41°, température pratiquement dysgénésique pour lui. Le vibron cholérique, le bacille dysentérique de FLEXNER et le paradysentérique de MORGAN sont également indologènes, mais la rareté de ces germes dans le lait, surtout aux dilutionsensemencées, fait que leur présence peut être négligée et n'influe pas sur l'ensemble des résultats.

En résumé, dans les conditions d'expérimentation où nous étions placés, la production d'indol égalait présence de colibacilles.

En était-il de même pour le cas où cette réaction était négative? et pouvait-on déduire de l'absence d'indol à l'absence de colibacilles ? Evidemment non; et ce, pour deux raisons principales :

a) L'existence de colibacilles anindologènes sur lesquels BESSON, RANQUE et SENEZ ont attiré l'attention; ces auteurs ont étudié diverses souches de colibacilles produisant de l'indol dans les milieux peptonés phéniqués qui perdaient ce pouvoir par l'adjonction à la solution de la plupart des sucres attaqués par le coli, à moins que la dose de sucre ne soit insuffisante pour satisfaire le potentiel d'action fermentative du microbe, cas auquel, après avoir épuisé la quantité de sucre mise à sa disposition, le colibacille produit secondairement de l'indol.

L'indol ne se produirait plus dès que la quantité de sucre, du glucose en l'occurrence, excéderait un gramme par litre, mais la propriété indologène de germes n'ayant pas produit d'indol dans un milieu sucré, serait recouvrée dès qu'on les reporterait dans l'eau peptonée ordinaire.

Si ces remarques semblent plutôt avoir un intérêt théorique, il n'en est pas de même du fait observé par les mêmes auteurs constatant que l'association du colibacille avec d'autres germes, le bacille d'EBERTH en particulier, annihile le pouvoir indologène.

Il est possible que d'autres germes que le bacille

typhique aient également le Pouvoir de masquer la fonction indologène du colibacille. L'analyse des trois laits déjà cités : numéros 66, 87 et 88, est à ce point de vue significative : alors que ces laits ne fournissaient pas d'indol, par aucune des méthodes habituellement employées, la technique de ZAPATERO, décrite au chapitre suivant, indiquait la présence de colibacilles; des étalements sur gélose lactosée tournesolée ayant été pratiqués, il fut possible d'isoler un germe Gram négatif présentant toutes les autres réactions caractéristiques du colibacille, en particulier la production d'indol par les méthodes à l'acide nitrique fumant et par la réaction de LEGAL-WEYL. Des isoléments furent pratiqués sur gélose lactosée tournesolée à partir des ensemencements initiaux. Pour rechercher la nature des germes présents dans le lait, mais il ne fut trouvé que des espèces banales : cocci en chaînettes, diplocoques Gram positif ayant l'aspect du pneumocoque, tous germes ne possédant pas le pouvoir d'entraver la fonction indologène du colibacille; il ne fut pas possible en particulier d'isoler un bacille Gram négatif ayant les caractères du bacille d'EBERTH.

Quelle que soit la nature du germe empêchant, nos analyses permettent donc de conclure que dans 6 p. 100 des cas la fonction indol est masquée malgré la présence certaine de colibacilles dans la solution ensemencée.

b) Un autre fait Peut expliquer le pourcentage réduit de la variété aerogenes trouvé dans nos analyses; dans une proportion variable selon les auteurs, cette variété de colibacilles n'aurait pas d'action ferment-

tative sur les matières albuminoïdes et ne produirait pas d'indol.

Certains bactériologistes admettent que 8 à 10 p. 100 des souches aerogenes sont anindologènes. M^{me} Irène LIPSKA donne une proportion beaucoup plus importante; dans son mémoire sur les bacilles du groupe « coli aerogenes » du lait en Pologne, elle indique que sur 39 souches d'aerogenes ayant présenté une réaction de VOSGES-PROSKAUER positive et une réaction de rouge méthyle négative, 13 seulement se sont révélés indologènes, soit une proportion énorme de 66 p. 100 de cette variété qui ne produirait pas d'indol.

Des auteurs tels que REMY et SUGG concluent d'une longue série d'expériences faites avec des colibacilles indologènes ensemencés sur milieux antiseptiques bichromatés et antipyrinés, que la fonction indol est d'une grande stabilité et beaucoup moins sujette à varier que ne l'affirment d'autres bactériologistes. BESSON conclut dans le même sens dans sa « Technique Microbiologique ».

Dans notre cas, il est évident qu'il aurait été intéressant de poursuivre la recherche de la variété aerogenes sur des laits n'ayant pas d'indol; nous en sommes donc réduits, pour expliquer la disproportion entre les deux variétés de colibacilles à évoquer les faits précédents sur lesquels l'accord entre bactériologistes n'est pas encore réalisé.

A ces deux causes Principales ayant pu entacher d'erreur nos résultats, nous ajouterons les 3 p. 100 où la distinction définitive entre coli fécal et coli aerogenes n'a pu être obtenue probablement comme il a

été dit par suite de la présence d'un germe intermédiaire entre les variétés « commune » et « aerogenes ».

Pratiquement il n'y a pas à compter sur le pouvoir pathogène des souches inoculées à l'animal pour contrôler les variétés fécales et aerogenes.

Si lors de l'ensemencement des souches sur milieu CLARK et LUB elles sont d'une pureté absolue qui garantit la justesse des résultats enregistrés, elles peuvent se souiller; il est nécessaire chaque mois de pratiquer un nouvel isolement pour obtenir de nouveau des souches pures, dont le pouvoir Pathogène, déjà fort atténué au début, diminue de plus en plus, de sorte que nous n'avons pas pratiqué d'inoculation à l'animal; les inoculations au cobaye, intéressantes théoriquement, se seraient révélées inefficaces, à moins de posséder un lot très important de ces animaux et d'exalter la virulence de la variété fécale par passages successifs.

Nous concluerons de ce rapide aperçu sur la valeur des résultats obtenus que si du point de vue bactériologique les techniques employées par leur manque de spécificité, leur longueur, leurs caractères même de réactions biologiques, ne représentant pas des méthodes mathématiquement exactes, leur approximation est suffisante pour constater que l'application hygiénique n'en est pas faussée : 61 p. 100 des laits analysés nous ont permis d'isoler 46 souches de colibacilles fécaux.

Si les procédés utilisés nous ont fait négliger quelques laits pollués par l'aerogenes, l'importance pratique en est nulle, vu le rôle saprophyte par excellence de ce germe.

CHAPITRE V

Essai d'Application d'une Méthode spécifique d'Identification des Colibacilles

La Réaction de Zapatero

Intérêt de cette méthode comparée aux précédentes.

Exposé théorique. Technique employée.

Résultats obtenus sur des souches déjà isolées de colibacille :

sur des laits coerrigés,

sur des laits crus.

Comparaison des résultats obtenus par les méthodes précédentes et la technique ZAPATERO.

Explication et interprétation des divergences observées.

Objection à la technique ZAPATERO : exposé, appréciation, réfutation.

Conclusions.

CHAPITRE V

Essai d'Application d'une Méthode spécifique d'Identification des Colibacilles — La Réaction de Zapatero

Les méthodes classiques de détermination et d'identification des colibacilles, dont nous avons indiqué dans les chapitres précédents les techniques et les résultats pour le département de Meurthe-et-Moselle, ont comme inconvénient leur longueur et la multiplicité des opérations à effectuer, qui les rendent peu aisées dans la pratique courante.

Plusieurs techniques rapides ont été proposées permettant le diagnostic de colibacilles du lait telles le terrain nourricier sélectif de KLIMMER, à base de lactose tryptaflavine; d'autres se proposent même de faire simultanément la détermination, la colimétrie et l'identification de l'espèce en cause, telle la gélose de TEAQUE-LEVINE, dont nous avons indiqué au chapitre III la composition et la technique; l'inconvénient de cette méthode est qu'elle classe les colibacilles fécaux et aérogenes d'après des caractères macroscopiques difficilement repérables sur des colonies dont le diamètre n'excède pas deux à trois millimètres.

Un auteur espagnol, M. ZAPATERO, Professeur à l'Université de Valladolid, a proposé dans le courant de l'année 1936 une méthode spécifique et sélective de détermination rapide du groupe coli-aerogenes du lait (*Le Lait*, juillet-août 1936).

Nous nous sommes proposé d'étudier cette méthode sur un certain nombre de laits du département et de comparer les résultats obtenus avec ceux des méthodes classiques.

L'exposé et la technique de cette méthode, les résultats fournis sur des souches isolées de colibacilles, sur les laits crus et sur les laits corrigés bactériologiquement par des procédés industriels, la comparaison avec les méthodes Précédemment utilisées; les objections soulevées par cette technique et les conclusions à en tirer au point de vue de son application à la pratique courante feront l'objet de ce chapitre.

I. — EXPOSÉ DE LA TECHNIQUE DE ZAPATERO.

Alors que la plupart des techniques rapides utilisent la fermentation du lactose comme base de méthode, l'originalité de la méthode de ZAPATERO consiste à s'adresser à la fermentation de la dulcite, qui jusqu'alors était utilisé dans la détermination de l'espèce colibacille au même titre que les autres sucres.

Ce corps organique, de formule brute $C^6H^{14}O^6$, est un hexol retiré de la manne. Par suite d'un abus de langage, maintenant consacré par l'usage, conséquence de sa saveur sucrée, il est désigné couramment comme un sucre, bien que constitué par l'association de deux

fonctions alcool primaire et de quatre fonctions alcool secondaire.

Cet auteur a montré l'unanimité existant chez tous les bactériologistes sur la fermentation de la dulcite par le colibacille, opinion déjà admise Par BESSON dans sa « Technique Microbiologique », où parmi les huit bases données pour l'identification du colibacille figure en sixième lieu la suivante : « Fermentation constante de la dulcite avec production de gaz en eau peptonée »; mais son principal mérite est d'avoir prouvé que seules les variétés fécales provoquent une action fermentative sur la dulcite, permettant ainsi une discrimination facile avec la variété aerogenes, et d'avoir réglé la composition du milieu et la technique à suivre d'une façon précise; la dulcite étant un « sucre » d'un prix élevé, ce défaut ne permettait Pas de l'employer dans une méthode qui prétendait s'appliquer à la pratique quotidienne du contrôle sanitaire du lait.

Après divers essais dans la détermination de la dose minima de dulcite utilisable, M. ZAPATERO a précisé qu'une concentration de cinq milligrammes par centimètre cube était suffisante pour produire la fermentation.

Nous avons donc, selon les indications puisées dans son mémoire original, préparé les solutions suivantes:

a) Milieu indicateur { Extrait de viande Liebig { aa : 10 gr.
Peptone Chapoteaux.
Chlorure de sodium. 5 gr.

Dissoudre à chaud l'extrait de viande; dissoudre à Part et également à chaud la peptone et le chlorure de

sodium. Mélanger les deux solutions et ajouter de l'eau distillée pour compléter à un litre. Neutraliser simplement au carbonate de soude N/10, filtrer; ajouter 5 cmc d'une solution à 1 p. 100 de rouge de phénol (c'est-à-dire de phénolsulfonephtaléine) dans le carbonate de soude N/10 et stériliser à l'autoclave.

Selon les conseils de l'auteur, nous avons effectué la neutralisation en présence du papier de tournesol, qu'il estime préférable, vu sa simplicité, aux techniques d'ajustement du Ph; on obtient ainsi un milieu limpide d'une coloration rouge cerise.

b) La solution de dulcite a été préparée à raison de 0 gr. 50 de dulcite pour 100 cmc d'eau; la solution est stérilisée et répartie soit en ampoules de 1 cmc contenant les 5 milligrammes de dulcite, soit en tubes stériles contenant 5 cmc de la solution et est ensuite reportée à l'autoclave; ces deux stérilisations doivent être effectuées à des températures ne dépassant pas 105°, de façon à éviter l'altération du sucre.

Les deux solutions étant ainsi préparées, le milieu est réparti, la veille de son emploi, dans de petits tubes à hymolyse (ceux de 100 × 10 mm) à raison d'un centimètre cube de bouillon au rouge de phénol et un autre (ou une ampoule) de la solution de dulcite; le mélange doit être rendu aussi homogène que possible par renversement des tubes, sans que ce geste nuise à sa stérilité, et porté à l'étuve à 37° jusqu'au lendemain.

Toutes ces opérations s'effectuent au voisinage immédiat d'une flamme et avec les précautions d'asepsie

d'usage. Le milieu doit être parfaitement rouge cerise et limpide; cette opération a pour but de s'assurer, après vingt-quatre heures d'étuve, que la solution n'a pas viré et a conservé sa coloration initiale. Lesensemencements sont pratiqués dans des conditions qui seront indiquées ultérieurement. M. ZAPATERO n'utilise pas les cloches de fermentation. « Au début, dit-il, nous avons introduit dans les tubes des cloches de fermentation, mais nous avons constaté qu'avec la dulcité, le colibacille a coutume de donner des gaz tardivement (quelquefois on ne les a pas avant 48 heures et plus) et comme nous cherchions une méthode rapide, puisque l'échantillon de lait doit être déterminé le plus vite possible dans la pratique laitière, nous avons décidé de supprimer le petit tube de fermentation et de nous limiter uniquement aux renseignements fournis par le virage au jaune du rouge de phénol, ce qui, comme nous l'avons établi, est suffisant. »

Les tubes ensemencés sont alors portés à l'étuve à 37°; la lecture des résultats a lieu 24 heures plus tard; d'après l'auteur, le positif se décèle lorsque les tubes qui contiennent des colibacilles virent au jaune canari franc, selon les teintes figurées dans la reproduction ci-après. Le colititre de l'échantillon, c'est-à-dire la quantité minima de lait qui accuse la présence de coli, est donné par le dernier tube qui présente le virage au jaune. Par la dilution ensemencée on calcule le nombre de *B. coli* par centimètre cube de l'échantillon, puis, par litre. La lecture des résultats doit négliger les tubes présentant des colorations rose ou orange. Il convient, en outre, de mettre toujours un tube témoin à l'étuve,

de façon à s'assurer de la stérilité du milieu et de l'absence de virage.

L'expérience de la méthode nous a confirmé que cette durée de 24 heures représentait le temps optimum pour obtenir la majorité des résultats, mais il n'est pas rare d'observer un virage entre la douzième et la vingt-quatrième heure d'étuve; au delà de ce temps, la coloration des tubes reste inchangée durant deux à trois jours en moyenne. L'observation des résultats est donc très simple.

M. ZAPATERO, en présentant sa technique, ajoute qu'il a vérifié sa méthode en recherchant dans chaque tube ayant viré au jaune, la présence de colibacilles et qu'il les a toujours déterminés, après ensemencement sur gélose d'ENDO, par les tests suivants : examen microscopique, morphologie, mobilité et Gram, fermentation de la lactose en milieux liquides (eau, peptone avec tube de fermentation); coagulation du lait, absence d'attaque de saccharose, non liquéfaction de la gélatine, réduction du rouge neutre, production d'indol dans l'eau peptonée; réactions de VOSGES-PROSKAUER négative et du rouge de méthyle Positive.

Il ajoute : « Nous avons pu voir que les colonies constituées par des germes qui répondent à toutes les caractéristiques sont toujours présentes dans les tubes qui présentèrent le virage au jaune et n'ont jamais été obtenues dans ceux qui n'ont pas viré. »

Comparant sa méthode au point de vue sensibilité avec celles qui utilisent la lactose, M. ZAPATERO fait remarquer que si les colititres obtenus avec la lactose sont plus hauts que ceux obtenus avec la dulcité, c'est

RÉACTION DE ZAPATERO



En A et A' : présence de coli fécal.

En B : présence de coli aerogenes.

En C : tube témoin.

que dans la fixation du « colititre-lactose », intervient non seulement la variété aerogenes, mais aussi les B. Paracoli et d'après lui, certains autres germes (streptocoques, ferments lactiques, etc.), qui constituent une partie de la flore microbienne du lait et sont capables de fermenter la lactose; sa méthode obtenant au contraire le colititre sur la base du colibacille dont les caractéristiques sont rapportées pas tous au type « fécal ». Il classe, au point de vue de leur sensibilité, les diverses méthodes dans l'ordre suivant, après des recherches faites sur les mêmes laits par ces différentes techniques :

1° SIMONDS et ZAPATERO,

2° ZAVAGLI,

3° KUFFERATH et PEYALLAC,

4° ROTEMBERG et PENCOSM,

en critiquant chacune de ces méthodes par des arguments contenus dans son mémoire. Et il termine ainsi : « Ce qui reste donc bien manifeste, c'est l'action que nous pourrions appeler « spécifique » de la dulcité dans le procédé pour lequel nous proposons de l'employer. Cependant le mécanisme intime de la fermentation de ce sucre par le coli n'est pas très clair. A cet objet nous tenons actuellement en marche quelques investigations qui, nous l'espérons, nous éclaireront sur ce point concret. De toutes façons, nous dirons que le dit procédé fermentatif doit être compliqué, puisque le colibacille existe dans le lait en présence d'autres germes, et cette véritable culture associée doit rendre plus complexe la fermentation et influencera peut-être l'activité du germe.

On sait en effet que le B. coli perd la propriété de

donner des gaz avec la lactose en présence du B. Paratyphique B et du B. de GARTNER.

Cette influence de la culture associée doit être nulle ou minimum dans le cas de la dulcité. En effet, nous avons fait des essais qui montrent que, si l'on maintient à l'étuve les tubesensemencés qui n'ont pas viré au jaune, le développement des autres germesensemencés avec le lait ne modifie nullement la couleur du milieu. Au contraire, quand il est en présence du colibacille, il vire et souvent très vite. »

1° *Application aux souches.*

Nous avons d'abord appliqué la méthode ZAPATERO, que nous appellerons maintenant Z, selon le désir de son auteur, aux souches isolées à partir des 50 premiers laits analysés, c'est-à-dire à 30 d'entre elles; l'intérêt était de voir s'il y aurait concordance ou non et dans quel rapport entre les résultats déjà obtenus et ceux de la technique de l'auteur esPagnol, et en particulier de savoir quelle serait en présence de ce nouveau milieu le comportement des souches dites indéterminées.

Lesensemencements des souches ont été effectués de la façon suivante : 1 cmc du bouillon au rouge de phénol et 1 cmc de la solution de dulcité sont placés dans des tubes de 100×10 mm; après vingt-quatre heures d'étuve, l'ensemencement a été effectué selon les règles en prélevant une öse de platine d'une souche et en l'incorporant dans un centimètre cube d'eau physiologique de façon à obtenir une solution homogène de 3 cmc; dans un certain nombre de cas, l'ensemencement a été effectué sur eau peptonée directement.

Les résultats qui ont été obtenus figurent dans le tableau ci-dessous :

	Coli fécal	Coli aerogene	Indéterminé
Souches isolées par les méthodes classiques	22	6	2
Souches isolées par la méthode ZAPATERO	21	9	0

Ils permettent de se rendre compte de la concordance des deux méthodes : la réaction de Z confirme le fort pourcentage de souches de coli fécal et affirme la nature bénigne de celles d'aerogenes. Les deux souches indéterminées qui ont cultivé dans le milieu Z n'ont pas produit de virage du milieu et s'apparentent dès lors plus à la variété aerogènes. Enfin le lait 29 — Aingeray — qui nous avait donné une souche de colibacilles fécaux n'a pas fermenté la dulcité en milieu Z, malgré deux essais successifs; c'est la seule dissonance enregistrée sur trente examens comparés.

2° Application aux laits corrigés industriellement.

Nous avons parallèlement appliqué les techniques précédentes et le milieu Z à la détermination colimétrique des laits industriels.

L'ensemencement a été effectué, étant donné les qualités bactériologiques de ces laits, *a priori* moins souillés, aux dilutions plus fortes de 0,5 cmc, 0,1 cmc et 0,01 cmc de lait pour 1 cmc de sérum physiologique en ajoutant 1 cmc de solution de dulcité et 1 cmc du bouillon au rouge de phénol Pour chacun des trois tubes, sauf pour celui qui contient 0,5 cmc de lait dans lequel il est préférable d'utiliser 2 cmc du bouillon au rouge de phénol, afin que la couleur rouge de l'en-

semble ne soit pas masquée par la blancheur d'une quantité relativement aussi grande de lait.

Les résultats ont été en tous points concordants : d'après le tableau de la page 81, les laits numéros 1, 2, 4 et 6 avaient produit de l'indol dans une dilution au dixième, les laits numéros 8, 10, 12 et 16, à partir d'un centimètre cube; la méthode Z nous a donné, pour ces laits, les résultats ci-dessous : le signe + signifiant virage au jaune et le signe — égalant aucun changement dans la coloration.

Numéros des Lait		0 cmc 5	0 cmc 1	0 cmc 01
		($\geq$ 2,000 colis)	($\geq$ 10,000)	($\geq$ 100,000)
aerogenes	1	+	+	—
	2	—	—	—
	4	+	+	—
aerogenes	6	+	+	+
	8	—	—	—
	10	—	—	—
aerogenes	12	+	+	—
	16	—	—	—

confirmant le pourcentage de 20 p. 100 de ces laits, dont la pureté bactériologique laisse encore à désirer, ainsi que le diagnostic de variété aerogenes pour les laits numéros 2, 8 et 16, Pratiquée à des dilutions différentes pour deux des tubes, il est vrai. La méthode Z s'est révélée en général, dans cette série d'analyses, très sélective : pour les laits n° 12, elle témoigne de la souillure par coli fécal jusqu'à la dilution du dixième correspondant à une teneur égale ou supérieure à 10.000 colis au litre et mettant par cette méthode ce lait en marge de la moyenne hygiénique admise.

Pour le n° 6, de sa pollution dans une dilution au millièm, indiquant une souillure également plus marquée que par les techniques précédentes.

Nous insistons enfin sur ce fait que les douze autres laits qu'il aurait été fastidieux de rapporter dans ce tableau n'ont donné lieu à aucun virage; sur cet autre également, témoignant en général de la qualité hygiénique très supérieure des laits traités industriellement, que, sauf le n° 6, aucun de ces laits n'a accusé la présence de colibacille type fécal dans les dilutions au centième alors que ce fait était de règle dans la majorité des analyses portant sur les laits crus.

M. ZAPATERO indique d'ailleurs qu'il a réalisé à l'Institut municipal de puériculture de Valladolid l'étude expérimentale de la stassanisation et qu'il a pu constater « les inestimables services que rend la méthode dans le contrôle du fonctionnement des appareils ».

3° Application aux laits crus.

Nous avons enfin appliqué la méthode Z à l'analyse des laits crus depuis le n° 60 jusqu'au n° 90. Les ensemcements ont été effectués cette fois aux mêmes dilutions que celles utilisées pour la recherche de l'indol; ce fait permettra après examen des résultats obtenus une courbe comparative des deux Procédés, dont la valeur sera d'autant plus grande que les mêmes dilutions préparées en même temps ont servi aux deux méthodes.

Chacun des trente laits analysés par la méthode Z comprenant quatre tubes, contenant trois centimètres cubes : un de bouillon au rouge de phénol, un second de la solution de dulcite, le troisième les dilutions de

lait dans le sérum physiologique au dixième, au centième et au millième, et simplement du sérum physiologique pour le quatrième tube qui accompagnait les trois premiers à titre de témoin; après vingt-quatre heures d'étuve, la lecture nous a donné :

	$\frac{1}{10}$ ($\geq$ 10.000 colis au litre)	$\frac{1}{100}$ ($\geq$ 100.000 colis au litre)	$\frac{1}{1000}$ ($\geq$ 1000.000 colis au litre)	Conclu- sions
60 Courbesseaux	+	—	—	fécal
61 Croismare	—	—	—	
62 Chanteheux	—	—	—	
63 Forcelles	+	+	+	fécal
64 Chaouilley	+	+	+	fécal
65 Tonnoy	+	+	—	fécal
66 Lucey	+	+	+	fécal
67 Mont-le-Vignoble	—	—	—	
68 Saffais	—	—	—	
69 Lupcourt	+	+	+	fécal
70 Sexey-aux-Forges	+	+	+	fécal
71 Jeandelaincourt	—	—	—	
72 Serrières	+	+	+	fécal
73 Nomeny	—	—	—	
74 Rouve	+	+	+	fécal
75 Port-sur-Seille	—	—	—	
76 Champenoux	+	+	+	fécal
77 Erbéviller	—	—	—	
78 Arraye-et-Han	—	—	—	
79 Haudonville	+	+	+	fécal
80 Franconville	+	+	+	fécal
81 Pulney	+	+	+	fécal
82 Royaumeix	—	—	—	
83 Pulligny	+	+	+	fécal
84 Ferrières	+	+	+	fécal
85 Moivrons	—	—	—	
86 Mazerulles	+	+	+	fécal
87 Méréville	+	+	+	fécal
88 Moncel-lès-Lunéville	+	+	—	fécal
89 Lantifontaine	—	—	—	
90 Hériménil	+	+	—	fécal

soit une proportion encore extrêmement forte de 19 laits contenant du colibacille fécal sur 30 analyses, témoignant une fois de plus de la souillure très marquée de ces laits.

Si nous comparons les résultats obtenus par les deux méthodes sur les trente laits envisagés, nous obtenons le graphique figuré sur la page ci-contre :

Sa lecture prête à quelques difficultés :

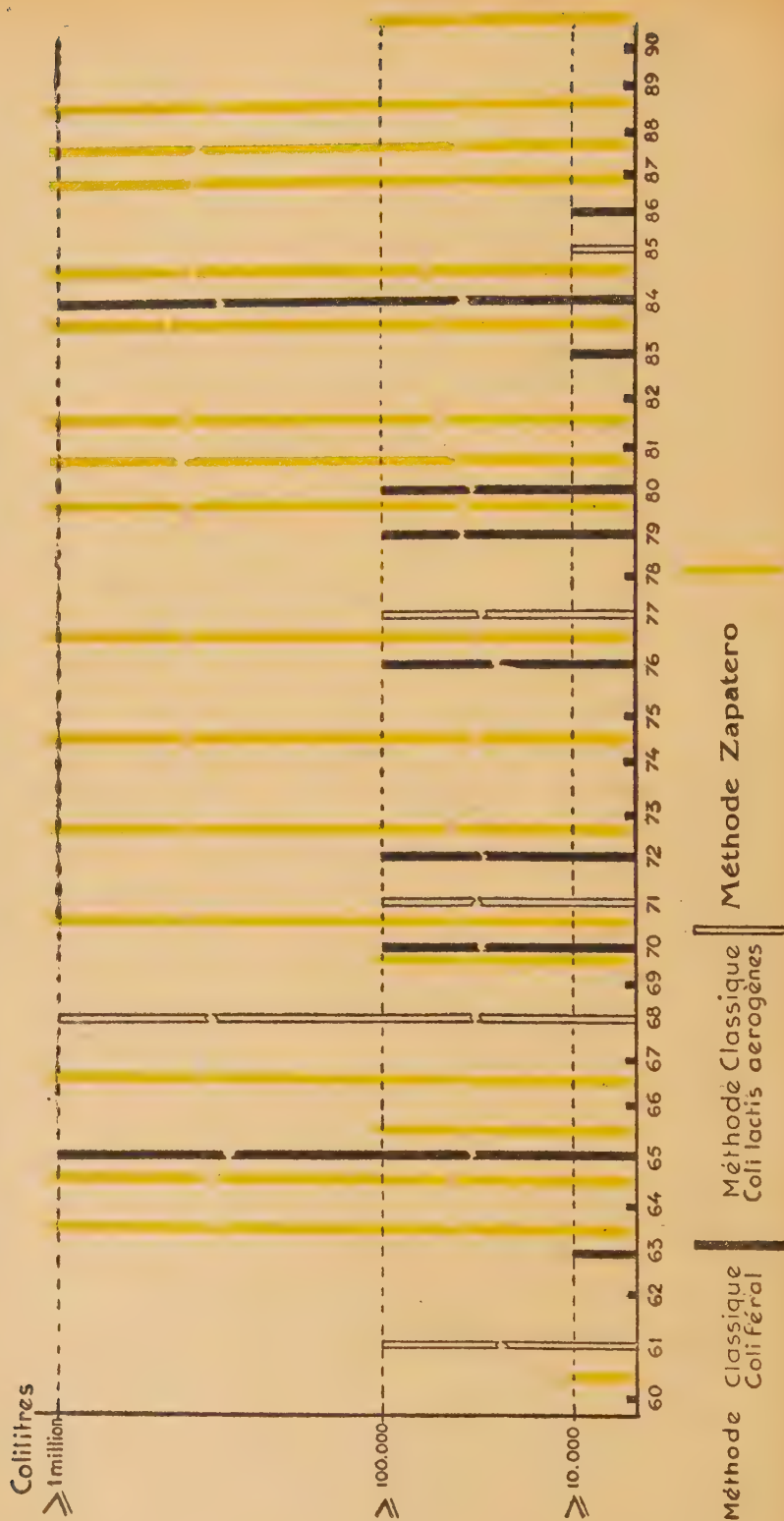
a) Etant donné la présence de 5 laits contenant la variété aerogenes. Les numéros : 61, 68, 71, 77 et 85 ont confirmé par la technique Z les renseignements fournis par la technique classique; n'ayant pas viré, leur reproduction est figurée sur le graphique en colonne claire.

b) Nous rappelons que les laits 66, 87 et 88 ne nous ayant pas donné une réaction d'indol positive, ont fait virer le milieu Z et attesté la présence de colibacilles respectivement dans les dilutions au millième pour les deux premiers et au centième pour le troisième et que du colibacille fécal typique a été isolé de ces laits sur gélose lactosée tournesolée à partir des ensemencements n'ayant pas donné d'indol.

c) La souche isolée du lait 63, que les premières techniques n'étaient pas arrivées à déterminer s'est révélée être d'une variété fécale par la méthode Z.

d) L'observation du graphique montre d'une façon générale que la technique Z est plus sélective que le procédé à l'indol; les numéros 72, 76, 79, 80, 83, 86, ont accusé par le milieu Z la présence de colibacilles dans les dilutions au millième.

Graphique comparé des résultats obtenus sur 30 faits crus analysés par les méthodes classiques et de Zapatero



e) Enfin il existe un certain nombre de réactions contradictoires que nous n'avions pas constatées dans la confrontation des résultats obtenus en examinant les souches isolées ou les laits corrigés industriellement et sur l'origine desquelles nous aurons l'occasion de revenir en fin de chapitre; les laits numéros 60, 64, 69, 74, 81 et 90 ont en effet accusé la présence de colibacilles alors que des étalements sur gélose lactosée tournesolée ne nous ont pas permis l'isolement de colibacilles comme le cas s'était produit pour les numéros 66, 87 et 88.

ETUDE CRITIQUE DE LA RÉACTION Z.

L'énoncé des principes de la réaction de ZAPATERO soulevait un certain nombre d'objections que nous avons tenu à exposer et dont les termes ont été soumis à la critique.

Nous avons classé ces objections sous deux rubriques selon qu'elles s'adressaient à la composition du milieu ou à l'action fermentative des germes microbiens.

1° Du côté de la composition du milieu :

a) Etant donné la capacité que possède le colibacille fécal de faire virer le rouge neutre au jaune canari (réaction au neutralroth de SAVAGE et ROTHBERGER utilisée Parfois comme méthode de contrôle de la présence des colibacilles, mais non comme procédé de

détermination, vu son inconstance) il était intéressant de voir si le virage du rouge de phénol n'était pas dû à la seule action des colibacilles, sans l'intermédiaire de la solution de dulcite. Nous avons doncensemencé des tubes en l'absence de dulcite, mettant en présence 1 cmc de bouillon au rouge de phénol et 1 cmc d'eau distillée tenant en suspension du colibacille; dans ces conditions, nous n'avons pas observé de virage de la solution après 24 heures d'étuve. Le rouge de phénol joue donc un simple rôle d'indicateur, la dulcite, par sa fermentation par le colibacille, déterminant la réaction.

b) Comme il a été exposé dans les techniques de détermination des colibacilles par les procédés classiques, l'adjonction d'acide Phénique est nécessaire dans les milieux peptonés pour gêner le développement des germes autres que le colibacille et on pouvait redouter à cet égard, le rouge de phénol n'étant pas antiseptique, que dans la technique ZAPATERO d'autres germes ne vinssent, en modifiant le PH du milieu, provoquer le virage. Cette objection n'a de l'importance que si le colibacille fécal n'est pas rigoureusement un germe spécifique de la fermentation de la dulcite.

2° Du côté de l'action fermentative possible d'autres germes :

a) La dulcite est un sucre qui n'est pas utilisé dans la pratique bactériologique : son emploi n'est connu dans la détermination d'aucun germe, mais il se pour-

rait que d'autres microbes aient une action sur elle : aussi, pour éliminer cette cause d'erreur, avons-nous procédé de deux manières. Dans une première série d'expériences, nous avonsensemencé directement à partir de souches isolées, sur le milieu complet : bouillon au rouge de phénol et dulcité, des colonies de staphylocoques, streptocoques, pneumocoques, proteus, bacilles typhiques et paras, de Löffler, de Hoffmann, et nous n'avons jamais observé le moindre virage,, bien que la plupart des germes ensemencés se soient abondamment développés dans la plupart des tubes, comme l'attestaient le trouble et la formation de voiles ou d'anneaux à leur surface.

Ces tubes ont en outre été maintenus plusieurs jours à l'étuve, sans qu'il ait été noté le moindre changement de coloration.

Dans une seconde série d'expériences, nous avons prélevé quelques gouttes d'un tube dont le virage indiquait la présence de colibacilles et les avons ensemencées sur gélose lactosée tournesolée, de façon à isoler un certain nombre de colonies diverses. Chaque colonie isolée a ensuite été repiquée sur gélose inclinée et une parcelle de chaque souche ainsi obtenue a été ensemencée en milieu Z.

Huit souches différentes avaient été ainsi isolées; seule a viré au jaune en vingt-quatre heures une colonie présentant des bacilles dont la morphologie et les caractéristiques signaient la présence du colibacille; cette épreuve qui avait pour but de s'assurer qu'il n'existait dans le lait analysé aucun autre germe ca-

Pable d'attaquer la dulcité, nous paraît particulièrement concluante de la spécificité de la fermentation de la dulcité par le colibacille fécal.

b) Certains germes n'attaquant pas la dulcité peuvent en se développant dans le milieu Z, qui peut être considéré par ses constituants comme un milieu de culture, provoquer une modification du pH dans la solution et consécutivement le virage; la réaction est en effet d'une grande sensibilité puisque expérimentalement l'adjonction d'une goutte d'acide acétique en milieu préparé provoque *ipso facto* le virage au jaune, tandis qu'une autre goutte de soude au dixième reproduit instantanément la coloration rouge primitive. Or, les ferments lactiques du lait produisent normalement une acidification qui s'accroît rapidement avec le temps et nous pensons que là réside l'explication des nombreux virages obtenus, nous le rappelons, sur les seuls laits crus, en discordance avec les résultats obtenus par la technique classique à l'indol, sans que les isolements sur gélose tournesolée aient pu mettre en évidence d'autres germes que la flore banale du lait.

Nous n'avons malheureusement pas mesuré le degré d'acidité DORNIC des laits crus incriminés; lorsque l'hypothèse précitée s'est imposée, nous avons mesuré l'acidité des derniers laits analysés : elle était en moyenne comprise entre 15 et 22 degrés DORNIC. Nous avons alors réalisé l'expérience suivante, concluante nous semble-t-il : le lait n° 89 laissait indifférent le milieu Z et nous faisait conclure à l'absence de colibacille; à ce moment son acidité était de 20°. Laissé

vingt-quatre heures à la température du laboratoire (soit 18 à 20°) son acidité passe à 28°; ensemencé à ce moment sur milieu Z, il a provoqué un virage des dilutions au dixième et au centième.

Etant donné la diversité d'origine des laits crus analysés et le temps écoulé entre le moment de la traite et celui où nous nous sommes procuré le lait au producteur et au ramasseur, puis entre ces opérations et l'ensemencement au laboratoire, nous croyons que malgré la période hivernale, où l'acidité se développe beaucoup moins qu'en été, la connaissance de ces faits jointe à l'expérience précédente nous autorise à penser que là réside l'explication des discordances, toujours orientées vers un résultat faussé dans le même sens, notées dans les graphiques comparés des analyses de laits crus.

c) Quelle que soit enfin la valeur intrinsèque du milieu Z, ses résultats comme ceux de toute méthode d'identification des espèces de colibacilles ne pourront pas être d'une rigueur absolue, étant donné les variétés intermédiaires aux souches « commune » et « aerogenes », très rares il est vrai, puisque nous en avons seulement relevé trois sur soixante souches isolées.

La technique de M. ZAPATERO nous paraît donc une méthode spécifique rapide et d'application facile de la détermination du groupe « coli-aerogenes » du lait. Qualitativement pour les souches isolées et le contrôle des laits corrigés industriellement, elle prend place à côté des réactions du rouge mnthyle, de VOSGES-PROSKAUER et de KOSER, dont elle se distingue par son uni-

cité et sa rapidité. Pour le contrôle bactériologique des laits crus, elle nous semble à l'heure actuelle, et dans les conditions de notre expérimentation, critiquable, à moins que les prélèvements aux fins d'analyse ne soient effectuées aussi près que possible du moment de la traite ou qu'un procédé de correction de l'acidité ne vienne neutraliser les laits dont l'acidité est égale ou supérieure à 25 degrés DORNIC environ.

CHAPITRE VI

Origine des Souillures par Colibacilles fécaux

Déductions hygiéniques - Conclusions

Origine et voie d'accès des colibacilles dans le lait. Législation actuelle en France; son insuffisance. Déductions hygiéniques. Conclusions.

CHAPITRE VI

Déductions hygiéniques — Conclusions

Il ressort des chapitres précédents que durant la période des mois d'hiver les laits crus livrés à la consommation dans le département de Meurthe-et-Moselle contiennent des colibacilles dans une proportion de 60 p. 100, sur lesquels près de 50 p. 100 représentent la variété fécale, espèce témoin de la souillure du lait par des matières organiques, rendant donc impropres à la consommation du point de vue de l'hygiène la moitié environ des laits crus.

L'origine et la voie d'accès dans le lait de ces bacilles, la législation actuelle du lait en France, les mesures hygiéniques préventives et palliatives à opposer à la mauvaise qualité des laits, les mesures légales qu'il serait utile à la santé publique de voir appliquer par le législateur fourniront l'essentiel de ce chapitre, dont les points principaux ont déjà été traités par MM. J. PARISOT, MELNOTTE et FERNIER dans leur travail sur l'« Hygiène du lait en Meurthe-et-Moselle ».

1° ORIGINE DES COLIBACILLES FÉCAUX.

L'origine des colibacilles fécaux a été démontrée par les auteurs nancéiens précités, qui ont étudié dans leurs travaux la valeur hygiénique des laits crus de Meurthe-et-Moselle aux diverses étapes de leur production et selon les procédés utilisés : traite manuelle ou traite mécanique. L'expérience a montré que sur 84 échantillons prélevés durant l'hiver au moment même de la traite, dont le jet était dirigé dans le flacon de Prélèvement stérile, le nombre de colibacilles au litre était inférieur à 250 dans 68 cas et inférieur à 500 dans 15 cas; qu'au point de vue colimétrique, comme en ce qui concerne leurs autres caractères (épreuves de la réductase, numération des autres germes), ces laits présentaient une pureté qui permettait de les considérer comme hygiéniques dans une proportion de 100 p. 100 des cas observés, le début et la fin de la traite offrant, comme le fait a été maintes fois constaté, un lait un peu moins pur que celui du milieu, par suite des circonstances mécaniques de l'opération.

Si le lait de traite manuelle garde ainsi sa valeur hygiénique à la sortie du pis, c'est que les souillures constatées dans des examens ultérieurs proviennent d'un apport extérieur, en Particulier pour les colibacilles. L'apport de ceux-ci dans le lait pouvant être dû, soit aux conditions de malpropreté dans lesquelles vivent souvent les animaux dans les étables, souillant eux-mêmes le lait du produit de leurs déjections, soit à un apport direct par les mains du trayeur et être alors d'origine humaine.

La question est d'importance car MM. J. PARISOT, MELNOTTE et FERNIER ont isolé des laits crus un certain nombre de souches qui, inoculées au cobaye, ont permis de constater la proportion élevée des germes d'origine intestinale dans le lait, transmis par les mains du trayeur : 7 colibacilles, 3 entérocoques, 1 bacille Paratyphique B. Pour savoir si la totalité des colibacilles fécaux du lait pouvait être rapportée à une souillure d'origine humaine, une recherche s'imposait : l'analyse bactériologique de la bouse de vache, afin de déterminer si les déjections de l'animal renfermaient des colibacilles présentant les caractéristiques communes aux variétés fécales ou non.

Après avoir dilué de la bouse dans du sérum physiologique, nous avons donc pratiqué plusieurs étalements sur gélose lactosée tournesolée; sur un total de six boîtes, nous avons réussi dans deux cas à isoler au milieu d'une flore microbienne particulièrement abondante des colonies rouges ayant fait fermenter la lactose et virer la gélose qui se sont révélées être des colonies de colibacilles fécaux, puisqu'elles nous ont donné une réaction de rouge méthyle positive, de VOSGES-PROSKAUER et de KOSER négatives.

Ces faits permettent donc de conclure que si le lait est contaminé initialement dans certains cas par les mains de trayeurs qui négligent trop souvent les précautions d'hygiène les plus élémentaires, la malpropreté de nombreux animaux dans les petites exploitations agricoles lorraines est également un facteur important de souillure primitive de ces laits, puisque leurs déjections contiennent qualitativement les mêmes

espèces microbiennes que celles retrouvées dans le lait.

La littérature est sur ce sujet assez partagée : les travaux du Professeur BURRI et de BAUMANN, à Liebefeld, en 1932, concluent à la prédominance presque exclusive de la souillure humaine, puisque d'après eux « l'addition de bouse fraîche à du lait propre n'augmente pas la souillure microbienne du lait ».

M^{me} LIPSKA, par contre, a isolé trente souches de colibacilles Provenant de déjections de vaches laitières se répartissant en variétés fécales et aerogenes par moitié et qui, d'après elle, jouent le principal rôle dans la pollution du lait. Elle note en particulier que la variété acidi-lactici n'a jamais été rencontrée par elle dans des déjections d'animaux, ce qui semble indiquer que toutes les souches de colibacilles des matières fécales ne peuvent s'acclimater dans le lait, ni inversement.

D'après cet auteur, la variété aerogenes se rencontre donc parfois comme saprophyte dans le tube digestif des animaux, où l'unanimité des bactériologistes s'accorde à reconnaître qu'elle ne saurait acquérir de pouvoir pathogène; il semble que, germe de la litière et du sol par excellence, cette variété de colibacille soitensemencée dans le lait lors des fréquents déplacements de poussière et d'air qui accompagnent la traite lorsque les récipients contenant le lait ne sont pas obturés.

La traite mécanique théoriquement parfaite s'est révélée, dans les analyses des auteurs nancéiens, com-

me donnant des résultats inférieurs, tant au point de vue colimétrique qu'au point de vue numération des germes en général à ceux fournis par une traite effectuée à la main dans des conditions hygiéniques moyennes. La cause en réside non seulement dans la nécessité de terminer la traite à la main, mais surtout par suite des liquides résiduaux extrêmement riches en germes, en colibacilles notamment, qui stagnent dans les conduites des appareils et dont l'origine ne peut être que la souillure apportée par les eaux destinées à leur nettoyage. Ces eaux, en provenance le plus souvent de puits voisins, dont les revêtements ne possèdent aucune étanchéité, sont dans des proportions considérables, les enquêtes hygiéniques effectuées dans la campagne lorraine accusent une proportion approchant 100 p. 100, souillées elles-mêmes de colibacilles, qui trouvent un excellent milieu de culture dans le lait lors de son passage dans les conduites.

Pour importantes que soient comme causes initiales d'ensemencement des colibacilles fécaux le manque de propreté de l'homme et des animaux, de nombreuses autres causes vont s'ajouter à celles-là au cours des périodes que traverse le lait depuis le producteur jusqu'au consommateur.

Les taux élevés de colibacilles trouvés dans les laits proviennent en effet de deux causes : d'une part la multiplication des premiers germes arrivés dans le lait et d'autre part les souillures ultérieures. Dans un milieu de culture aussi riche que celui représenté par le lait, le premier de ces facteurs n'est pas négligeable. Etudié par M. PIEN, il a fourni à cet auteur la propo-

sition suivante, qui témoigne de l'extrême enrichissement d'un lait en germes :

« Une incubation de 5 à 6 heures à 37° est la condition nécessaire pour qu'un germe de *B. Coli* contenu dans un échantillon de 100 cmc se soit multiplié d'une façon suffisante pour obtenir avec certitude des repiquages de 1 cmc sûrement Positifs. »

Bien que cette conclusion ne s'applique qu'à un lait maintenu à la température optima de 37°, les températures inférieures à 20°, par exemple, fréquemment réalisées par les laits crus durant l'été, permettent encore un développement considérable des colibacilles.

MM. J. PARISOT, MELNOTTE et FERNIER reprenant et complétant les travaux italiens de MM. GORRIERI et ZAVAGLI sur les influences combinées du temps et de la température sur la multiplication du colibacille, ont montré que le taux de ce germe dans un lait représente surtout, en dehors de la souillure initiale, un témoin des conditions plus ou moins favorables de température dans lesquelles le lait a été conservé. Une table publiée dans leur ouvrage déjà cité, leur a permis d'arriver aux conclusions suivantes : « Dans un lait prélevé au pis et conservé au-dessous de 6 à 7 degrés, le colibacille ne se multiplie pas; cette température suffit donc, si elle n'empêche pas la prolifération de certains germes, à empêcher celle du colibacille; au-dessus de cette température au contraire, la richesse du lait augmente considérablement, d'autant plus que la température s'élève. »

Nous avons utilisé ces données dans les analyses de laits crus que nous avons pratiquées; chaque échantillon était placé à la glacière où règne une température de 6-7 degrés, au cas où de nouveaux ensemencements auraient été jugés nécessaires.

Les causes ultérieures de pollution des laits sont représentées d'abord par les récipients, rarement lavés avant et après leur utilisation, sinon dans la majorité des cas avec une eau elle-même suspecte en ce qui concerne sa teneur en colibacilles. Les chiffres fournis à cet égard par M. NEVOT dans sa thèse sont des plus éloquents : l'ensemencement de l'eau de lavage de récipients ayant servi à la traite a révélé des taux microbiens allant de 420.000 à 4.500.000 colonies par centimètre cube; bien que cette thèse ne fasse pas mention de la présence des colibacilles dans cette eau de lavage, il est logique de supposer qu'une flore microbienne aussi abondante s'accompagne certainement d'un pourcentage élevé de bacilles du groupe « coli-aerogenes ».

Le lait recueilli en brochons est ensuite conservé à la ferme, de quelques instants pour la traite du matin à une douzaine d'heures pour celle du soir dans l'étable même ou un local attenant où il reste à la température ambiante, soumis à un certain nombre d'opérations qui ne s'effectuent pas sans apport de germes extérieurs : écrémage total et mélange du lait nouvellement recueilli et filtration sur toile pour le débarrasser des grosses souillures.

Le ramassage effectué, le lait est destiné à être traité dans des usines laitières qui limitent dès lors sa souil-

lure et sans lui rendre la pureté qu'il possède en général au pis de la vache, si la bête est saine, le mettent de nouveau dans la circulation pourvu de qualités hygiéniques supérieures à celles des laits crus. Ceux-ci, par contre, déposés chez des détaillants ou vendus directement au détail par le ramasseur continuent à se polluer au cours des multiples manipulations qu'ils subiront, expliquant les taux extraordinairement élevés de colibacilles pour la période d'hiver, que nous avons rencontrés, jusqu'au moment où une ébullition, le plus souvent imparfaite, comme il a déjà été dit, viendra arrêter le développement de tous ces germes.

Seule, en effet, l'ébullition prolongée détruit la plupart de ceux-ci, à la condition formelle que le lait ainsi réellement bouilli soit ensuite conservé à une température maxima de 15 degrés, dans de bonnes conditions de protection des apports extérieurs, sinon le pullulement des germes et des colibacilles qui ne sont jamais complètement éliminés par une ébullition même prolongée se produit de nouveau à des taux sans doute inférieurs à ceux des laits crus, mais néanmoins dangereux comme l'ont établi de nombreuses analyses effectuées au laboratoire de l'Institut d'Hygiène de Nancy.

2° LÉGISLATION ACTUELLE DU LAIT.

En regard de ces nuisances diverses qui tendent à transformer le lait en bouillon de culture, quelles sont les mesures adoptées par les Pouvoirs publics pour la

protection du consommateur, la sauvegarde du premier âge en particulier ?

Beaucoup de textes de lois ont été élaborés sans doute, mais ils ne visent que la propreté extérieure du lait, la plus grossière, ou ses qualités commerciales.

La loi du 1^{er} août 1935 sur la répression des fraudes concernant le lait et ses dérivés n'envisage que le contrôle physico-chimique et n'a eu d'autre avantage du point de vue hygiénique que de faire disparaître les laits macroscopiquement sales; cette loi intéresse aussi la répression du mouillage. A la suite de nombreux auteurs, nous dirons que cette pratique relativement peu fréquente d'après les statistiques du service de la répression des fraudes dans le département, si elle est frauduleuse, est en général beaucoup moins dangereuse pour la santé publique que le fait de pouvoir mettre en vente un lait contenant plus d'un million de colibacilles au litre. Le mouillage ne revêt un caractère de gravité que lorsqu'il est pratiqué avec une eau impure apportant ainsi de nouveaux germes au lait. Le décret du 25 mars 1924 n'a pas amélioré la situation.

Le 15 novembre 1927, une circulaire des ministres de l'Agriculture et de l'Hygiène a recommandé le contrôle de « certains laits provenant d'étables officiellement contrôlées », en autorisant les cultivateurs qui se soumettraient au contrôle officiel bactériologique à mettre sur leurs brochons un signe distinctif ou une étiquette portant la mention : « Laits contrôlés ». En Lorraine, aucun producteur n'a été tenté par les avan-

tages hygiéniques et sans doute commerciaux de cette circulaire.

La loi du 7 juillet 1933 a déjà réalisé un progrès d'ordre bactériologique en interdisant la vente du lait provenant des animaux atteints de tuberculose avancée des poumons, de l'intestin, des mamelles ou de l'utérus. Etant donné que le cheptel bovin de Meurthe-et-Moselle est peu infecté de tuberculose, 6,2 p. 100 seulement des animaux réagissant à l'épreuve de la tuberculine de 1926 à 1932, cette loi n'a pas été d'un grand intérêt pour le département. Il n'en est pas de même du décret du 23 septembre 1934, qui ne reconnaît plus les catégories de laits créées par le décret de mars 1924 et a supprimé le lait demi-écrémé, réalisant ainsi pour la région un léger progrès hygiénique par la suppression des manipulations auxquelles les mélanges de lait donnaient lieu.

Une dernière loi, celle du 2 juillet 1935, est intéressante pour l'hygiéniste : bien que non encore appliquée, si elle ne marque pas une étape décisive dans le projet de correction bactériologique des laits, les directives qui l'ont inspirée méritent de l'exposer avec quelques détails :

ARTICLE PREMIER. — Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier ne pourra être mis en vente que s'il provient de femelles laitières en parfait état sanitaire.

ARTICLE 2. — A partir du 1^{er} janvier 1936, est considéré comme une tentative de tromperie ou une tromperie (visée par la loi du 1^{er} août 1905) le fait de

vendre du lait ayant subi un écrémage même partiel. Le lait écrémé n'a donc plus d'existence légale, sauf pour la vente de certains laits spéciaux réglementés par décret ultérieur du ministre de l'Agriculture. Cette interdiction supprime une cause de souillures très fréquente chez les petits producteurs. Elle est étendue par l'article 3 aux laits de mélange et constitue donc un sérieux avantage hygiénique.

ARTICLE 4. — Les laits d'étables soumises après déclaration à un contrôle officiel vétérinaire et médical, réglementé par décret rendu sur la proposition des ministres de l'Agriculture et de la Santé publique, après avis favorable du Conseil supérieur d'Hygiène publique, pourront être vendus sous la dénomination de « lait provenant d'étables officiellement contrôlées ».

ARTICLE 5. — Dans un délai qui sera fixé par arrêté du ministre de l'Agriculture, à l'exception des laits d'étables officiellement contrôlées, ne pourront être vendus à l'état cru que : 1° les laits vendus directement au consommateur par le producteur. Les coopératives et syndicats laitiers se soumettant à un contrôle spécial défini par le Comité départemental du lait seront assimilés à ces producteurs.

2° Les laits vendus par un ramasseur collectant moins de 600 litres par jour.

3° Les laits vendus dans leur rayon de ramassage par les fruitières ou beurreries coopératives ou leurs mandataires, dont la vente du lait en nature ne constitue pas la spéculation habituelle.

Les préfets, sur avis du service de la répression des fraudes et après trois avertissements, pourront interdire, à titre temporaire, la vente de ces laits pour un délai maximum de trois mois, mais renouvelable.

Toutefois, les villes où un arrêté préfectoral antérieur au 1^{er} janvier 1935, a rendu obligatoire la pasteurisation du lait de consommation et interdit la vente du lait cru collecté par un ramasseur, conservent en vigueur cet arrêté préfectoral.

ARTICLE 6. — « Les laits ne répondant pas aux prescriptions des articles 4 et 5 ne pourront être vendus en nature en vue de la consommation humaine que s'ils sont soumis préalablement à un traitement de pasteurisation. »

ARTICLE 7. — Cet article prévoit : 1° Un décret du ministre de l'Agriculture réglementant les conditions de vente du lait et des locaux, véhicules et récipients destinés à cette vente;

2° Des règlements régionaux édictés par arrêtés relatifs à la livraison du lait et où seront indiquées les mesures concernant les étables, la propreté de la traite, le traitement du lait après la traite, les conditions de transport du lait ainsi que les conditions hygiéniques auxquelles doivent répondre les récipients utilisés pour la récolte et le transport du lait.

L'article 5 de cette loi consacre donc une grosse erreur hygiénique en prétendant soustraire au contrôle officiel du lait ceux vendus directement du producteur au consommateur et surtout les laits de petits ramasseurs, dont de nombreux travaux et le nôtre ont

montré qu'ils étaient les moins acceptables au point de vue bactériologique; la moitié, en ne considérant que le seul test de souillure que nous avons analysé, étant à rejeter de la consommation durant les seuls mois d'hiver, époque la plus favorable aux analyses.

Il résulte de l'examen sommaire de tous ces textes que les mesures actuellement appliquées et celles préconisées dans la loi du 2 juillet 1935 se révèlent inopérantes pour assurer la correction de la souillure microbienne des laits, préoccupation qui apparaît même dans un texte comme celui de la loi de 1935.

Les causes de cette carence sont multiples :

Au premier rang se place le désintéressement du grand public pour la valeur hygiénique du lait, le voile blanc de la pureté, comme on l'a dit, dissimulant à ses yeux sa souillure. L'irréductibilité du petit producteur à se plier aux disciplines d'un contrôle bactériologique dont la réalisation heurte ses intérêts et ses préjugés, explique également l'insuffisance de ces lois, le législateur se souciant peu d'entrer en conflit avec son électeur, préoccupation qui apparaît même dans un texte comme celui de la loi de 1935 : aucun médecin, hygiéniste ou vétérinaire, ne fait en effet partie des vingt membres qui composent le Comité central du lait chargé, en cas d'application, de la surveillance de cette loi.

Il en résulte que dans les régimes autoritaires où la pollution des laits crus et leur teneur en colibacilles égale si elle ne dépasse, comme nous l'avons vu, les

trôle bactériologique du lait des étables par des laboratoires agréés analogues à ceux fonctionnant pour le contrôle hygiénique des eaux, avec possibilité d'avertissements et de sanctions effectivement appliqués, dans le cas de souillures dépassant les taux (indiqués au chapitre II), auxquels se rallient la majorité des auteurs français et le Comité d'Hygiène de la Société des Nations.

On objectera sans doute que cette ferme position des hygiénistes en regard du problème du lait heurte non seulement les habitudes, mais les intérêts légitimes des petits producteurs; la vente à l'usine de pasteurisation étant moins rémunératrice que celle aux ramasseurs et l'élaboration du contrôle hygiénique des laits engendrant des transformations d'exploitation auxquelles ils ne peuvent financièrement faire face. La constitution des petits producteurs en coopératives ou en syndicats communaux de façon à fournir aux usines centrales de pasteurisation un lait qui serait acheté à des prix différents selon les résultats du contrôle bactériologique, suivant en cela les heureuses réalisations de la ville de Milan, une aide financière apportée aux agriculteurs sur les fonds d'assurances sociales en fonction des résultats hygiéniques obtenus, des concours avec primes organisés selon les mêmes modalités et tendant vers le même but, nous semblent des mesures propres à écarter ces objections.

2° Prophylaxie des souillures des laits industriels.

Cette prophylaxie est déjà réalisée en grande partie par les industriels qui possèdent des laboratoires de surveillance de la qualité hygiénique de leurs laits. Mais l'inégalité encore trop marquée des laits pasteurisés ou stassanisés livrés dans le commerce montre la déficience de ce contrôle et la nécessité, malgré leur amélioration certaine par rapport aux laits crus, de les soumettre également au contrôle officiel. Cette formule est acceptée par la majorité des industriels laitiers : elle garantit le bon fonctionnement de leurs appareils et augmentera certainement le rendement commercial de leurs exploitations.

Il nous semble enfin que dans la région lorraine, où l'eau des puits est particulièrement riche en colibacilles, par suite de la proximité des lieux d'aisance ou des fumiers et de la perméabilité du sol et où le lait accuse également des teneurs en colibacilles extrêmement élevées, la présence de ces seuls germes pourrait être retenue comme un test de souillure des laits. Leur quantité supérieure à 10.000 unités au litre devant faire éliminer les laits qui les contiennent comme impropres à la consommation. La réaction de ZAPATERO, compte tenu des réserves formulées en conclusion du chapitre V, méthode pratique et rapide, pourrait être retenue dans les contrôles de petite bactériologie à effectuer dès la traite ou comme vérification des appareils de correction industriels, les laboratoires agréés se chargeant des analyses plus complètes par les mé-

thodes classiques du rouge méthyle, de VOSGES-PROSKAUER et de KOSER.

L'étape décisive du contrôle bactériologique des laits serait ainsi franchie, seule méthode efficace pour assurer à la collectivité un lait « potable » au même titre que l'eau qu'elle consomme.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAHAM (G.). — Infection of milk by artifical bacterium, *Zentralblatt f. Bakter.*, 8 juillet 1929, p. 74 à 80.
- ALLARD (G.-V.). — Le contrôle du lait à Québec (*Le Lait*, numéro 121-122, janvier-février 1933).
- AYERS et RUPP. — A Synthetic medium for the direct enumeration of organisms of the colo aerogenes group. (*Journal. of Bact.*, 1919, p. 433).
- BALDWIN. — Bacillus coli in milk-a. preliminary report. (*Am. Journ.*, publ. Health R; Y; 1917, VII, 391-406).
- BALL (O.-V.). — Modèles de règlements municipaux sur le contrôle du lait (*Canadian Public Health. Journ.*, Vol. XXV, 1934, p. 25, in *Office intern. d'hygiène publique*, n° 1, janvier 1935).
- BARDSLEY (D.-A.). — B. coli as an index of fecal pollution of water supplies (*Journl of hygiene*, t. XXV, 1926, p. 11).
- BARKWORTH. — Germes coliformes et tenue de qualité des laits (*Journal of the South Eastern Agric. Col.*, n° 32, 12 juillet 1933).
- BAUDEAU (H.). — Le Contrôle du lait à Nancy (*Le Lait*, novembre 1936).
- BECK (A.). — *Centralblatt. f. Bakt. Abt*, 1, 1931, 122, 537.
- BENOIST (F.). — Le contrôle officiel du lait (*Paris Médical*, 7 novembre 1931).
- BERTAZZONI. — Importance pratique de la recherche colimétrique en tant que contrôle du fonctionnement des installations de pasteurisation (X° Congrès mondial de lacterie. Rome, Milan, mai 1934).

- BEUSCH. — Le contrôle du lait à Leipzig (*Deutsche Mediz. Wochenschrift*, n° 33, 1935, in *Office international d'Hygiène publique*, n° 9, septembre 1936).
- BORDET (J.) et CINCA (M.). — *C. R., Soc. Biol.*, 1930, 83, 1293.
- BOUIN. — Présence du bacille tuberculeux dans les laits de Meurthe-et-Moselle (*Revue d'Hygiène et de Prophylaxie Sociale*, 1923).
- BUNKER. — Tuckeer and Green, a modification of the technic of Vosges-Proskauer reaction (*Journal of Bact.*, 1918).
- CAMBIAIRE (DE). — Pour la protection légale du consommateur contre les nuisances du lait (*Thèse Montpellier*, 1932).
- CHALMERS (H.). — *J. Of. Hyg.*, 1928, 27, 295.
- CHEN and RETTGER. — A correlation study of the colon. aerogenes group of bacteria, with special reference to the organisms occuring in the seil (*Journ. of Bact.*, 1920, p. 253-298).
- CHIARI (H.) et LOFFLER (E.). — *C. f. Bakt. Abt. I*, 1925, p. 95-96.
- CHONG CHEN (Ch.) et F. RETTGER. — *Journ. of Bact.*, 1920, p. 253.
- CLARK and LUB. — The diferenciation of bacteria of the colon. aerogenes family by the use of indicators (*Journ. Inf. dis*, 1924).
- Improved Chemical Methods for diferentiating bacteria of the coli-aerogenes family (*Journ. of Biological Chemistry*, t. XXX, 1917, p. 209).
- DEMETER (K.-J.). — Directives pour l'exécution du contrôle bactériologique du lait (*Deutsche Molkerei Zeitung*, novembre 1934).
- FOUASSIER. — L'expertise des laits malpropres (*Annales de falsifications et fraudes*, 1927, p. 577).
- FOURNIER. — Un coefficient de propreté du lait (*Le Lait*, décembre 1935).
- Du coefficient de propreté du lait (*L'Esprit Médical*, 20 juillet 1935).

- FRICKER (J.) et LAURIN (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 106-449.
- GHEORGHIN (J.) et BARTH (C.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 98-1631.
- GIROUX (J.). — Le contrôle du lait (*Revue de Microbiologie appliquée*, juillet, août, septembre, octobre 1934).
- GOEPFERT (P.). — Lait cru et pasteurisé sous couche mince en pédiatrie (*Thèse*, Nancy 1933).
- GUILLERD. — The methyl red and Vosges-Proskauer reactions with special references the routine water analysis (*Journ. Inf. dis.*, t. XXIII, 1918, p. 429-239).
- HALLIEZ (G.). — Le lait « officiellement » contrôlé en France (*Revue de Pathologie comparée et d'Hygiène générale*, n° 441, juin 1933).
- HARDEN and LEVINE. — On the significance of the Vosges and Proskauer's réaction (*Journal of Bacteriology*, 1916, p. 153).
- HARDEN (A.). — On Vosges and Proskauer's reaction for certain Bacteria (*Proceedings of Royal Society*, series B, t. LXXIX, 1905-1906, p. 424).
- HARDEN, LEVINE, WELTER and JOHNSON. — The Vosges-Proskauer reaction and correlated reactions of colilike organism. (*Journal Inf. Dis.*, t. XXI, 1917, p. 39).
- HARDEN and WALPOLE. — Chemical action of *B. lactis aerogenes* on glycole and mannital : production of 2/3 butylene-glycol and acetyl-methyl-carbinol (*Proc. Roy. Soc., series B.*, t. LXXVII, 1906, p. 399).
- HICKS (E.). — *Journ. of Hyg.*, 1927, p. 26, 357.
- HOUDINIÈRE. — Consommation et inspection du lait à Nancy (*Le Lait*, juillet-août 1933).
- HOWARD (B.) JEFFS. — Le contrôle du lait au Canada (*Office intern. d'hygiène publique*, n° 1, t. XXVIII, janvier 1936, fasc. I, p. 88).
- INO (Sh.). — *C. f. Bakt. Abt.*, I, 1929, 112, 243.
- JOANNON (P.). — Contrôle du lait et mortalité infantile (*Journal Médical Français*, n° 12, décembre 1932).
- KLIENEBERGER (E.). — *C. f. Bakt. Abt.*, I, 1929, 112, 354.

KON. — Organismes à forme coli dans le lait et dans les matières fécales des bovidés (*Journal of Dairy Research*, mai 1923, tome IV, n° 2).

KOSER. — *Journ. of. Bact.*, 1924, 9, 59.

LIPSKA (Irène). — L'analyse bactériologique du lait (*Le Lait*, novembre 1933, juillet-août 1934, juillet-août 1935, mars 1937).

LABRE. — Le lait et son contrôle hygiénique (*La Médecine*, n° 15, décembre 1928).

LEVINE. — On the correlation of the Vosges-Proskauer's and methyl red reactions in the colon aerogenes group of bacteria (*Journ. Inf. Dis.*, t. XVIII, p. 358-367).

MAJOEWSKY. — Normes bactériologiques pour l'expertise du lait destiné à la consommation (*Le Lait*, septembre-octobre 1936).

MALCOM. — Existence des bactéries à forme coli dans le lait (*Journal of Dairy research*, t. V, décembre 1933).

MARCHE. — Contribution à l'étude de la pasteurisation et du contrôle hygiénique des laits (*Thèse*, Nancy 1935).

NEVOT (A.). — Les méthodes de contrôle hygiénique des laits (*Thèse*, Paris 1930).

— L'approvisionnement de Paris en lait. Nécessité d'un contrôle hygiénique; ses méthodes; recherche du coli-bacille dans le lait (*La Pratique Médicale Française*, n° 5).

NOIR. — La question du lait (*Concours médical*, n° 48, 25 novembre 1928).

ODAISKI et BAIES. — Le titre du B. Coli et la teneur totale en germes du lait de consommation à Bucarest (*Le Lait*, mars 1936).

PARISOT (J.). — La fièvre typhoïde dans le département de Meurthe-et-Moselle (*Revue d'Hygiène*, juillet 1934).

PARISOT (J.) et MELNOTTE (P.). — Le problème du lait potable en Meurthe-et-Moselle. La législation récente peut-elle avantageusement le résoudre? (*Revue médico-sociale de l'Enfance*, 4^e année, n° 3, 1936).

- PARISOT (J.), MELNOTTE (P.) et FERNIER (L.). — L'hygiène du lait dans le département de Meurthe-et-Moselle (*Bulletin trimestriel de l'Organisation d'Hygiène de la S. D. N.*, 1934, vol. III. Extrait n° 21).
- PIEN (J.), BACHIMONT et FILHOL. — Sur la recherche du *Bacterium coli* dans le lait (*Le Lait*, 1933, p. 346, 548, 817).
- PORCHER (Ch.). — Les maladies d'origine animale transmissibles à l'homme par le lait (Compte Rendu du 11^e Congrès International de pathologie comparée, t. I, 1931).
- PETIT (G.). — La question du lait (*Le Courrier Médical*, n° 20, 27 mai 1928).
- ROBERTSON (W.-A.). — Le contrôle du lait en Australie (*Office International d'hygiène publique*, n° 11, nov. 1935).
- ROELAND (C.). — La production et le contrôle du lait en Italie (*Revue de Pathologie comparée et d'Hygiène générale*, juin 1936).
- SCHREIBER. — Pour éviter les ravages du mauvais lait (*La Médecine infantile*, janvier 1927).
- SCOTT (W.-M.). — Maladies causées par le lait (*Journal of Dairy Research*, t. VI, n° 1, 1935, p. 103-112).
- SENDRAIL. — Le contrôle du lait (*Toulouse Médical*, 15 juillet 1924).
- THIEULIN. — L'Hygiène du lait en France (*Bull. Off. Intern. Hygiène Publique*, n° 1, t. XXVIII, 1936).
- WILSON (G.-S.). — Classement bactériologique des laits (*Le Lait*, juillet-août 1936).
- ZAPATERO. — Méthode pratique et simple de colimétrie (*Le Lait*, juillet-août 1936).
- ZAVAGLI et GORINI. — L'examen pour la surveillance bactériologique du lait (*Annali d'Igiene*, t. XLII, n° 7, juillet 1932).
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
AVANT-PROPOS	7
CHAPITRE I. — Le problème du lait et l'hygiène alimentaire en général	9
CHAPITRE II. — Les colibacilles. Leur signification dans le lait	27
CHAPITRE III. — Les techniques bactériologiques pratiquées pour l'identification du groupe « coli-aerogenes »	43
CHAPITRE IV. — Résultats fournis par les laits crus et pasteurisés. Etude critique de leur valeur	63
CHAPITRE V. — Essai d'application d'une méthode spécifique d'identification des colibacilles : la réaction de Zapatero	89
CHAPITRE VI. — Origine des souillures par colibacilles fécaux. Dédutions hygiéniques. Conclusions	111
BIBLIOGRAPHIE	131



Vu :

Nancy, le 12 Mars 1937.

Le Président de la Thèse :

PARISOT.

Vu et approuvé

Nancy, le 13 Mars 1937.

Le Doyen de la Faculté de Médecine

L. SPILLMANN.

Vu et permis d'imprimer :

Nancy, le 18 Mars 1937.

Le Recteur de l'Académie,

BRUNTZ,

Président du Conseil de l'Université.

